JAHRGANG IX
1931

NEUE FOLGE
BAND III

LIEFERUNG 4
(SCHLUSSLIEFERUNG)

MIKROCHEMIE

Internationales Archiv für deren Gesamtgebiet

Redigiert von

W. BÖTTGER, Leipzig / **F. EMICH**, Graz / **H. EPPINGER**, Freiburg i. Br. / **F. FEIGL**, Wien
H. LIEB, Graz / **F. PREGL** †, Graz / **R. STREBINGER**, Wien / **R. WASICKY**, Wien.

Unter Mitwirkung von:

E. Abderhalden-Halle, **H. V. Arny**-New York, **Y. Asahina**-Tokio, **G. Barger**-Edinburgh, **A. Benedetti-Pichler**-New York, **R. Berg**-Königsberg, **G. Bertrand**-Paris, **W. Biltz**-Hannover, **J. C. Bock**-Milwaukee, **E. M. Chamot**-Ithaca, **O. Dafert**-Wien, **G. Denigès**-Bordeaux, **J. Dubsky**-Brünn, **R. Eder**-Zürich, **S. Edlbacher**-Heidelberg, **R. Ehrenberg**-Göttingen, **G. Embden**-Frankfurt a. M., **H. v. Euler**-Stockholm, **B. Flaschenträger**-Zürich, **E. Freund**-Wien, **A. Friedrich**-Wien, **O. Fürth**-Wien, **W. Geilmann**-Hannover, **W. C. de Graaf**-Utrecht, **H. Gravestein**-Delft, **H. G. Greenish**-London, **R. Grengg**-Wien, **F. L. Hahn**-Frankfurt a. M., **F. Haurowitz**-Prag, **L. van Itallie**-Leiden, **H. Jansch**-Wien, **S. Kakiuchi**-Tokio, **J. Kendall**-New York, **J. Kisser**-Heid **G. Klein**-Heidelberg, **H. Kleinmann**-Berlin, **P. D. C. Kley**-Delft, **F. Knoop**-Tübingen, **L. Kofler**-Innsbruck, **J. M. Kolthoff**-Minneapolis, **G. Lunde**-Stavanger, **K. L. Maljaroff**-Moskau, **A. Martini**-Rosario, **A. Mayrhofer**-Wien, **L. B. Mendel**-New Haven, **A. Miolati**-Padova, **H. Molisch**-Wien, **J. M. Nelson**-New York, **J. B. Niederl**-New York, **W. Nonnenbruch**-Prag, **F. Paneth**-Königsberg, **J. K. Parnas**-Lemberg, **V. Patzelt**-Wien, **W. Pauli**-Wien, **E. Philippi**-Innsbruck, **L. Pincussen**-Berlin, **D. Pr'anischnikow**-Moskau, **H. Přibram**-Prag, **K. Rast**-Leverkusen, **P. Rona**-Berlin, **L. Rosenthaler**-Bern, **O. Ruff**-Breslau, **H. Schmalfuß**-Hamburg, **E. Schmitz**-Breslau, **N. Schoorl**-Utrecht, **F. Schulz**-Jena, **C. Schwarz**-Wien, **Y. Shibata**-Tokio, **H. Siedentopf**-Jena, **E. v. Skramlik**-Jena, **D. D. van Slyke**-New York, **A. Soltys**-Graz, **K. Spiro**-Basel, **E. Starkenstein**-Prag, **W. Stepp**-Breslau, **J. Stoklasa**-Prag, **K. Thomas**-Leipzig, **J. Tillmans**-Frankfurt a. M., **A. Tschermak-Seysenegg**-Prag, **A. Tschirch**-Bern, **A. Viehoever**-Philadelphia, **C. Weygand**-Leipzig, **H. Winterstein**-Breslau, **O. Wintersteiner**-New York, **F. Zaribnicky**-Wien, **R. Zeynek**-Prag.

KONGRESSHEFT

290 Seiten, 40 Abbildungen im Text, 7 Tafeln und zahlreiche Tabellen.

Inhaltsverzeichnis auf pag. V.

Mikrochemie erscheint in zwangloser Folge — in Lieferungen von verschiedenem Umfange.

EMIL HAIM & CO.
WIEN UND LEIPZIG

Wir empfehlen beiliegenden Prospekt besonderer Beachtung

HERAEUS

ALLE GERÄTE FÜR DIE MIKROANALYSE AUS PLATIN ODER FEINSILBER

ELEKTRISCHE ÖFEN ZUR MIKROELEMENTAR-ANALYSE NACH F. PREGL IN VEREINFACHTER AUSFÜHRUNG NACH BONIFAZ FLASCHENTRÄGER

PLATINSCHMELZE W.C. HERAEUS G.M.B.H. HANAU

Originalabhandlungen.

Zur Mikroschmelzpunktbestimmung.

Von **Hans Linser.**

Aus dem Biolaboratorium Oppau, I. G. Farbenindustrie A. G., Ludwigshafen a. Rh.

(Eingelangt am 19. Januar 1931.)

Der Mikroschmelzpunktapparat[1]) hat sich als ein sehr brauchbares Hilfsmittel in der Methodik der Mikrochemie und der biologischen Chemie erwiesen. Lange schon machte sich das Bedürfnis bemerkbar, die kleinen und kleinsten Substanzmengen, die man in der Histochemie wie auch in der physiologischen Chemie als Versuchsendprodukte erhält, einer sie eindeutig identifizierenden Analyse zu unterziehen. Da infolge dieser kleinen Mengen, in denen die Stoffe meist vorliegen, eine chemische Analyse nur schwer oder überhaupt nicht mehr möglich ist und bei organischen Produkten wohl auch nicht viel zur Bestimmung der Identität beitragen würde, so erscheint wohl eine genaue physikalische Analyse als die gegebene Möglichkeit eines Identitätsbeweises. Im Mikroschmelzpunktapparat nach G. KLEIN liegt ein Apparat vor, der eine solche physikalische Analyse gestattet. Bei einer einzigen Schmelzpunktbestimmung läßt sich eine Substanz mit größter Sicherheit identifizieren, da sich nicht nur der Schmelzpunkt, sondern daneben auch eine Anzahl anderer Konstanten und Eigenschaften des Stoffes bestimmen lassen. Nach einer einmaligen Bestimmung läßt sich über die geschmolzene Substanz folgendes aussagen:

1. Ob sie trocken ist. Wenn nicht, dann erfolgt beim Steigern der Temperatur bis 100° eine Wasserabgabe, die sich darin äußert, daß an dem Deckglas Wassertröpfchen auftreten.

[1]) G. KLEIN, Ein bewährter Mikroschmelzpunktapparat, Mikrochemie, PREGL-Festschrift, S. 192 (1929); — vgl. dazu L. KOFLER und H. HILBCK, Mikrochemie IX (III), 38 (1931).

2. Sieht man dabei, daß die Kristalle oder Körner zusammensintern, während am Deckglas Wassertröpfchen entstehen, so läßt das darauf schließen, daß die Substanz kristallwasserhaltig ist. Der Punkt der Kristallwasserabgabe kann also am Thermometer abgelesen werden.

3. Viele, meist organische Stoffe haben die Fähigkeit, bei bestimmten Temperaturen zu sublimieren. Dies läßt sich im Apparat beobachten. Die Substanz nimmt oberhalb einer bestimmten (ablesbaren) Temperatur an Menge ab, während an dem darüberliegenden Deckglas schöne, allseitig gut ausgebildete Kristalle der betreffenden Substanz entstehen.

4. Manche Substanzen, die nicht sublimieren, aber auch manche sublimierte Kristalle lagern sich bei bestimmten Temperaturen in Kristalle anderer Form oder anderen Systems um. Auch dieser Umlagerungspunkt kann angegeben werden.

5. Eine Untersuchung des Deckglases mit den sublimierten Kristallen oder auch des Umlagerungsproduktes im Polarisationsmikroskop gestattet es, die optischen Eigenschaften und die Winkel, somit auch das Kristallsystem des untersuchten Stoffes festzustellen.

6. Viele Substanzen zeigen vor, während oder nach der Schmelztemperatur Zersetzungserscheinungen, die sich in einer Rot-, Braun- oder Schwarzfärbung der Substanz äußern und die ebenfalls bei bestimmten Temperaturen auftreten (Zersetzungspunkte).

7. Andere Substanzen zeigen bei bestimmten Temperaturen Zerfallerscheinungen. Die Zerfallprodukte lassen sich dann oft getrennt sublimieren und schmelzen. Auch dieses Verhalten trägt zur Charakteristik eines Stoffes bei.

8. Der Schmelzpunkt läßt sich genau ermitteln und eventuell durch Beimischung der bekannten Substanz als identisch mit dem dieser erweisen. Ferner läßt sich angeben, ob die Kristalle schnell oder langsam schmelzen und eventuell durch Wiederholung des Schmelzvorganges nach dem Erkalten der Schmelze, ob die Substanz unverändert oder unter Zerfall oder Zersetzung schmilzt.

9. Endlich läßt sich durch Vergleichen der Schmelzpunkte der n i c h t sublimierten und der reinen, sublimierten Substanz feststellen, ob erstere bereits rein oder noch durch Beimengungen

verunreinigt ist, was sich in einer Erniedrigung (oder Erhöhung) des Schmelzpunktes gegenüber dem der reinen Kristalle äußert.

10. Ob eine einheitliche Substanz oder ein Gemenge mehrerer vorliegt, kann sich in Auftreten mehrerer Sublimate bei verschiedenen Temperaturen und der Verschiedenheit derer Schmelzpunkte und der übrigen Konstanten und Eigenschaften (Winkel usw.) oder aber dadurch bemerkbar machen, daß eine sublimierende und eine nichtsublimierende Substanz mit weit verschiedenen Schmelzpunkten vorliegen.

Es lassen sich also für geringste Substanzmengen genügend viele und charakteristische Konstanten feststellen, die einen Identitätsbeweis zu liefern imstande sind. Ein Mikroschmelzpunktapparat wird demnach überall dort notwendig und unentbehrlich sein, wo Identitätsbeweise für kleine Substanzmengen notwendig sind. Es wird der Apparat also in der Mikro- und Histochemie, wohl aber auch in der Chemie überhaupt, wie auch in der Mineralogie und in praktischen Gebieten, wie in der Pharmakologie und in der Warenkunde Bedeutung gewinnen.

Zur Methodik.

Allgemeines.

Beim Arbeiten mit dem Apparat sind folgende Punkte zu berücksichtigen:

1. Der Beginn der Sublimation ist dann abzulesen, wenn die ersten, meist noch sehr kleinen Kristalle am Deckglas auftreten. Die in diesem Augenblick abgelesene Temperatur gibt den Sublimationspunkt.

2. Das Deckglas mit dem Sublimat wird zur weiteren Beobachtung abgenommen, der Objektträger etwas beiseite geschoben und dann das Deckglas (mit der Substanz nach unten) auf die reine Objektträgerfläche aufgelegt (ohne Quarzsandkörner).

3. Als Schmelzpunkt wird jener Punkt bezeichnet, wenn die kleinsten und kleineren Kristalle oder Körner zerfließen und bei den größeren Kristallen eben die Ecken und Kanten abzuschmelzen beginnen[2]).

4. Erhält man aus einem Substanzgemisch bei verschiedenen

[2]) Der vorliegende Apparat arbeitet mit mikroskopisch kleinen Mengen von Substanz. Die in der Literatur zitierten Schmelzpunkte wurden mit größeren

Temperaturen Sublimate, so werden diese auf verschiedenen Deckgläsern aufgefangen und jedes einzelne geschmolzen.

5. Nach jeder Bestimmung muß vor dem Auflegen des nächsten Präparates um 60° bis 100° unter den zu erwartenden Schmelzpunkt abgekühlt und das Präparat dann einige Minuten liegengelassen werden, um eine vollkommene Temperaturangleichung von Tisch und Objektträger zu erreichen.

6. Die Dicke der zur Bestimmung verwendeten Objektträger beeinflußt die abgegebenen Werte folgendermaßen:

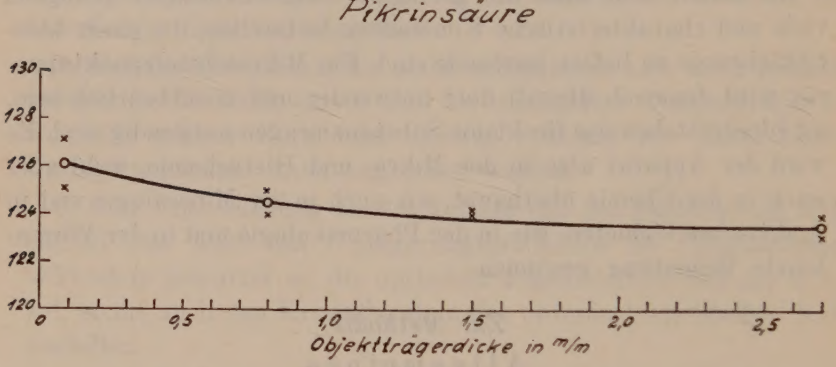


Abb. 1.

Abhängigkeit des Schmelzpunktes von der Stärke des verwendeten Objektträgers.

Man hat also fortlaufend Objektträger konstanter Dicke zu verwenden. Abweichungen von ± 0,3 mm sind dabei bedeutungslos.

Eichung.

Bei der serienmäßigen Herstellung des Mikroschmelzpunktapparates durch die Firma C. Reichert, Wien, hat sich gezeigt, daß

Mengen von Ausgangssubstanz ermittelt: Makroschmelzpunkte. Die im KLEIN'schen Apparat ermittelten Werte stellen die Mikroschmelzpunkte dar. Beide sind miteinander nicht immer identisch und nicht immer vergleichbar. Die Unvergleichbarkeit beruht auf der Verschiedenheit der Definitionen der beiden Begriffe.

Makroschmelzpunkt: Vollständiges Zerfließen der gesamten, größeren Menge der Substanz.

Mikroschmelzpunkt: Beginnendes Abschmelzen der einzelnen Kristalle. Abrunden der Ecken der größeren, Zerfließen der kleineren Kristalle zu Tropfen. Bei den Makroschmelzpunkten handelt es sich also um das Ende, bei den Mikroschmelzpunkten aber um den Beginn des Schmelzvorganges.

die Beschaffenheit des für den Apparat verwendeten Materials nicht in genügendem Maße konstant zu halten ist, um völlige Gleichheit der Apparate untereinander in bezug auf die abgelesenen Temperaturwerte zu erzielen. Die Differenzen der Apparate untereinander können durch Eichung und Zwischenschaltung einiger Metall- oder Glimmerplättchen zwischen Thermometer und Heizplatte aufgehoben werden. Dieser Vorgang ist einigermaßen umständlich und erfordert langwieriges Ausprobieren des Apparats mit verschieden dicken Plättchen, bis die Übereinstimmung der gefundenen Werte mit den Schmelzpunkten der Testsubstanzen vorhanden ist. Man beseitigt daher auf diesem Wege nur größere Abweichungen.

Es liegt in der Natur der Sache, daß der Apparat viel schwerer und mit geringerer Genauigkeit auf richtige Ablesungen gebracht werden kann, als man etwaige Fehler ablesen kann.

Um die nach der vorläufigen Übereinstimmung durch Plättchen verbleibenden kleinen Fehler auszuschalten, empfiehlt es sich, mit dem fabrikneuen Apparat eine einmalige Eichung mit einer Reihe von Testsubstanzen vorzunehmen und die apparatspezifischen Fehler tabellarisch oder kurvenmäßig festzuhalten, wie dies im folgenden an einem Beispiel gezeigt ist. Durch Interpolation kann dann für jeden abgelesenen Wert die Korrektur bestimmt werden, wonach der richtige Schmelzpunkt ermittelt werden kann.

Eichkurven der Art, wie sie hier beschrieben sind, setzen Konstanz der Eigenschaften des Apparats voraus. Es muß berücksichtigt werden, daß bei dem fabrikneuen Apparat frisches Isoliermaterial vorliegt, das vielfach noch wasserhaltig ist und dessen Wärmeleitvermögen je nach seinem Wassergehalt schwankt. Wird mit einem neuen Apparat geschmolzen, so macht sich diese Fehlerquelle stark bemerkbar und die Werte differieren um mehrere Grade. Es ist daher bei jedem neuen Apparat darauf zu achten, daß er durch längeres Ausglühen zur Konstanz gebracht wird. Man erreicht dies durch mehrmaliges und längeres Erhitzen bis etwa 400° C. Dann erst gibt der Apparat zuverlässige Werte.

Temperatursteigerung.

Klein hat früher (l. c.) angegeben, daß mit dem Apparat bei konstanter Temperatursteigerung von etwa 3 bis 6 Grad pro Minute

gearbeitet werden muß, wenn die Fehler $\pm 0{,}5^\circ$ nicht übersteigen sollen. Diese Forderung ergibt sich aus der Tatsache, daß der Schmelzpunkt einer Substanz mit der Geschwindigkeit der Temperatursteigerung variiert.

Die Abhängigkeit des Schmelzpunktes von der Geschwindigkeit der Steigerung scheint, wie eine Reihe von Versuchen ergeben haben, derart zu sein, daß mit steigender Geschwindigkeit die Schmelzpunkte sinken, und zwar offenbar proportional nach etwa $Y = 3{,}1\,X$, wie aus Abb. 2 hervorgeht[3]). Dabei bedeutet Y die Schmelzpunktverschiebung in Graden und X die Temperatursteigerung in °/min (Grade pro Minute). Abb. 1 gibt die Werte für Acetamid (82°), Pikrinsäure (122,5) und 9,10-Dibromanthracen (221), also für Substanzen verschieden hoher Schmelzpunkte. Die

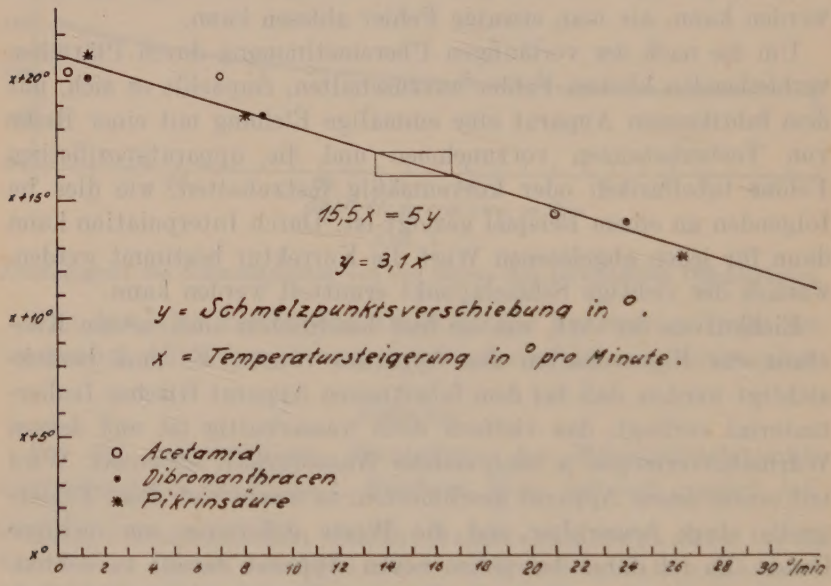


Abb. 2.

Abhängigkeit des Schmelzpunktes von der Geschwindigkeit der Temperatursteigerung.

[3]) Diese Beziehung stimmt innerhalb 80° und 250° annähernd für Geschwindigkeitsdifferenzen von etwa ± 5°/min. Möglicherweise ändert sich der Neigungswinkel mit der Temperatur (Abb. 2a). Doch liegen diese Abweichungen zwischen 80° und 250° innerhalb der Ablesefehler.

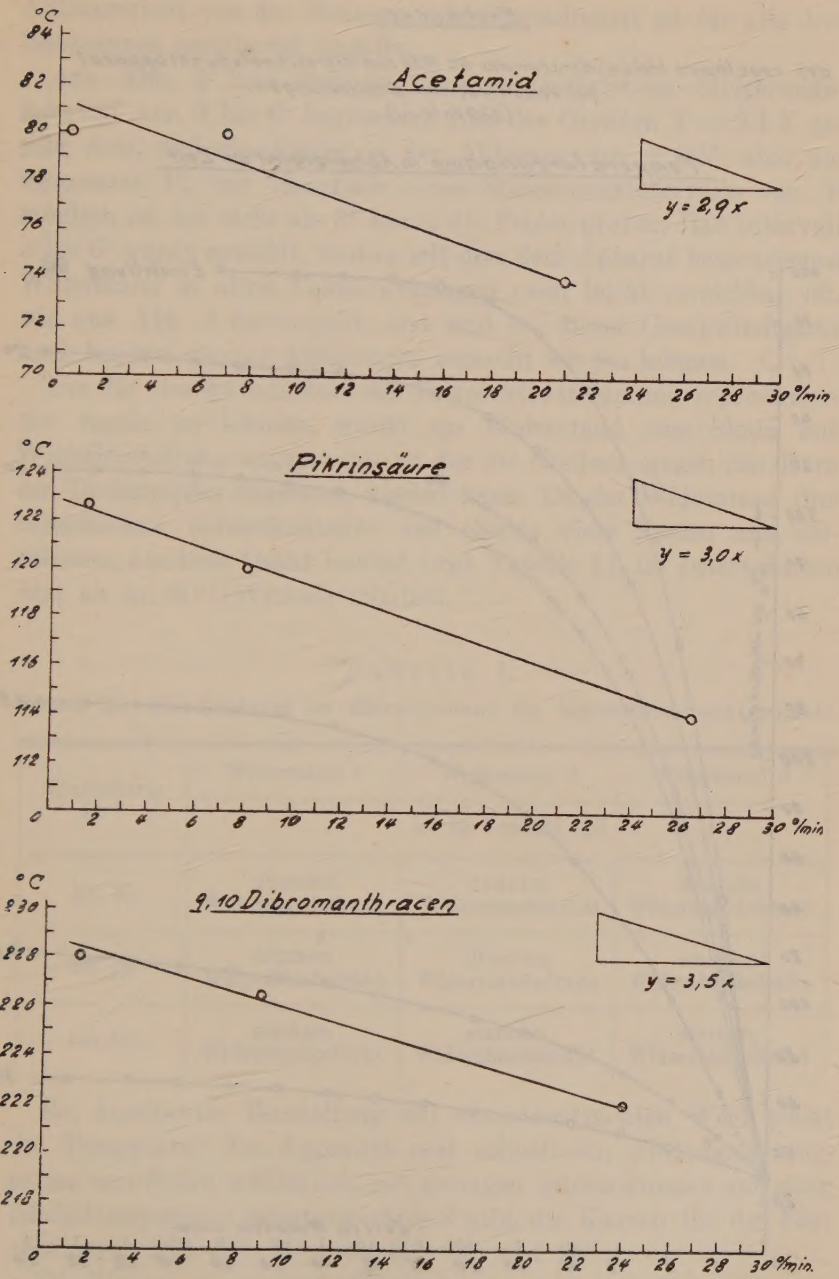

°C
84
82
80
78
76
74
72
70
Acetamid
y = 2,9 x
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 %/min
°C
124
122
120
118
116
114
112
Pikrinsäure
y = 3,0 x
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 %/min
°C
230
228
226
224
222
220
218
9,10 Dibromanthracen
y = 3,5 x
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22 24 26 28 30 %/min.

Abb. 2a.

Eichkurve

des regelbaren Heizwiderstandes Nº 1950 zum Mikroschmelzpunktapparat bei verschiedenen Einstellungen. (220 Volt ~)

Temperaturzunahme in Abhängigkeit der Zeit

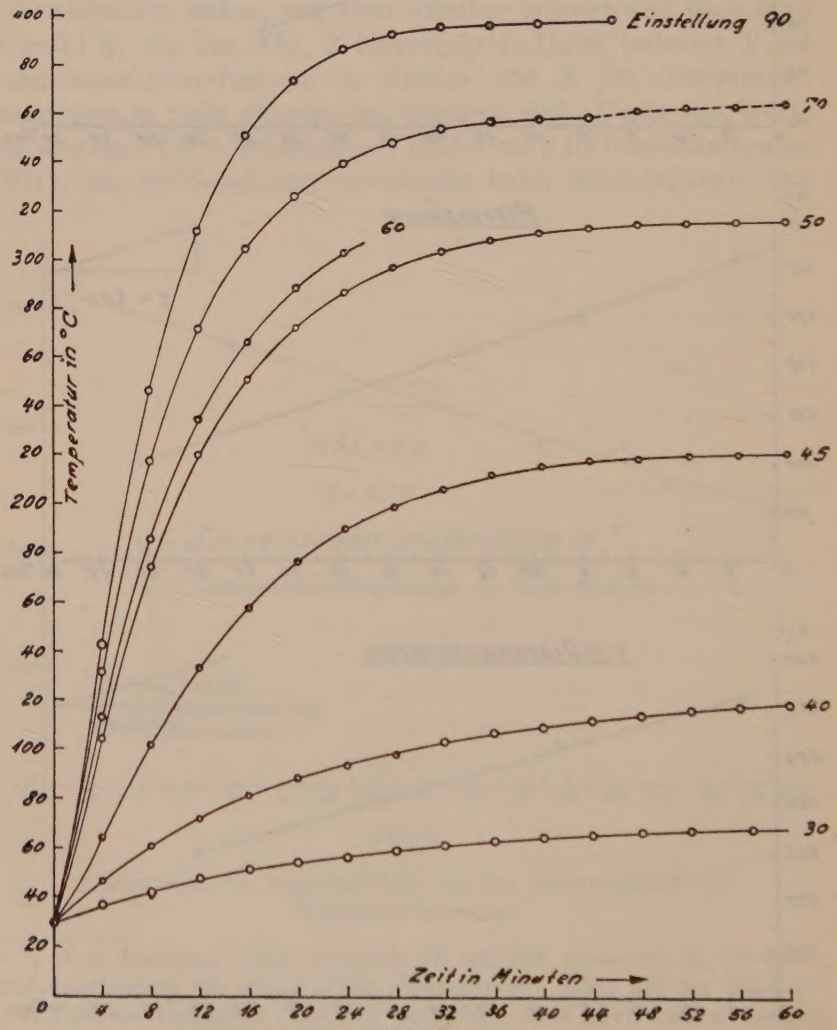


Abb. 3.

Abhängigkeit von der Steigerungsgeschwindigkeit ist für alle drei Substanzen annähernd dieselbe.

Aus Abb. 2 läßt sich nun das vorgeschriebene Steigerungsintervall von 3 bis 6° begründen. Aus der Geraden $Y = 3{,}1\,X$ ergibt sich, daß ein Fehler in der Ablesung um $\pm$ 0,5°, also um insgesamt 1°, nur innerhalb eines Steigerungsintervalls von 3° möglich ist, bei mehr als 3° wären die Fehler größer. Das Intervall 3 bis 6° wurde gewählt, weil es mit dem dem Apparat beigegebenen Widerstand in allen Temperaturlagen noch leicht erreichbar ist, wie aus Abb. 3 hervorgeht, und weil bei dieser Geschwindigkeit noch bequem genaue Ablesungen gemacht werden können.

Um die Geschwindigkeit der Temperatursteigerung reproduzierbar regeln zu können, wurde am Widerstand eine Skala mit Winkeleinteilung angebracht, an der die Stellung gegen den Dorn des Drehknopfes abgelesen werden kann. Da der Widerstand drei verschiedene Schleifkontakte und ebenso viele Spulen aus verschieden starkem Draht besitzt (vgl. Tabelle 1), ist Interpolation erst ab ca. 60° (Winkel) möglich.

Tabelle 1.

Bereich der drei Kontakte am Heizwiderstand des Mikroschmelzpunktapparats.

Einstellung in °	Widerstand 1	Widerstand 2	Widerstand 3
	ist in Kontakt mit		
bis 45	dünnem Widerstandsdraht	dünnem Widerstandsdraht	dünnem Widerstandsdraht
bei 50	dünnem Widerstandsdraht	dünnem Widerstandsdraht	starkem Widerstandsdraht
bei 55	starkem Widerstandsdraht	starkem Widerstandsdraht	starkem Widerstandsdraht

Bei konstanter Einstellung auf einen bestimmten Wert steigt die Temperatur des Apparats erst schnell an, wird dann langsamer und bleibt schließlich mit geringen Schwankungen auf einer Höchsttemperatur konstant. Abb. 3 gibt die Kurven für die Einstellungen 30°, 40°, 45°, 50°, 60°, 70° und 90°.

Die Steigerungsgeschwindigkeit kann von je etwa 8 zu 8 Graden

als konstant angesehen werden, genauer von etwa 4 zu 4 Graden. Wünscht man also bei einem zu erwartenden Schmelzpunkt eine bestimmte Geschwindigkeit der Steigerung, so kann man sie auf der betreffenden Kurve aufsuchen und den zugehörigen Winkelwert einstellen. Dabei macht sich die Inhomogenität des Widerstandes zwar störend bemerkbar, doch läßt sich die gewünschte Geschwindigkeit bei einiger Übung leicht erreichen. Es wäre jedoch bequemer, Widerstände mit Wicklungen von nur einer Art Widerstandsdraht und nur einer Stärke zu verwenden.

Zur Bestimmung der Steigerungsgeschwindigkeit im Schmelzpunktintervall beim Schmelzvorgang verfährt man am besten so, daß man mit einer Uhr das Steigen des Thermometers verfolgt und den Anstieg von Minute zu Minute auf Millimeterpapier registriert. Es ergeben sich dabei die Kurven nach Art der Abb. 3. Indem man dann vom Schmelzpunkt um eine Minute der Steigerungskurve zurückgeht, läßt sich die Zahl der in dieser Minute zurückgelegten Grade direkt ablesen, womit der Geschwindigkeitswert °/min bestimmt ist. Auf diese Weise wurden die Werte der folgenden Tabelle 2 erhalten. Auf Grund der Abb. 2, $Y = 3.1\,X$, wurden aus den gefundenen Ablesungen die Schmelzpunkte für die Steigerungsgeschwindigkeit 2° min berechnet, und anderseits aus der Abweichung vom Literatur-Schmelzpunkt die zur Erreichung des theoretischen Wertes notwendige Steigerungsgeschwindigkeit.

Die Zahlen der letzten Kolonnen zeigen, daß die berechnete Steigerungsgeschwindigkeit, die zum richtigen Ablesewert führen muß, für das gesamte Temperaturintervall nicht konstant bleibt, sondern vielmehr mit steigender Temperatur ansteigt. Trägt man an der X-Achse eines Systems die richtigen Schmelzpunkte der Substanzen auf und an der Y-Achse die nach obiger Tabelle dazu berechneten Steigerungsgeschwindigkeiten, ausgedrückt in ° min (Grade pro Minute), so erhält man die in Abb. 4 wiedergegebene Kurve.

Korrektion.

Man könnte also, um zu richtigen Ablesungen zu gelangen, die Steigerungsgeschwindigkeit für den zu erwartenden Schmelzpunkt an der Kurve ablesen, den Widerstand darauf einstellen (vergl. Abb. 1) und den Schmelzpunkt bestimmen, der nun gleich dem theoretischen ist. Dieses Verfahren ist aber nicht allgemein durch-

Tabelle 2.

Substanz	Literatur F p	Gefundener F p	St. G. °/min	Differenz Gef. Lit. F. p.	F p berechnet für 2°/min[1])	Differenz Gef. Lit. F p	°/min für richtige Werte
Acetamid	82 — 83	82 82,4	2,5 1,5	± 0,0 + 0,4[2])	82,2 82,2	— 0,2[2]) + 0,2[2])	2,5 1,5
α-Naphthol	96	96 96,2	2,0 1,5	± 0,0 + 0,2[2])	96,0 96,0	± 0,0 ± 0,0	2,0 1,5
Pikrinsäure	122,5	122,5 120 114	1,5 8,1 26,5	± 0,0 2,5 + 8,5	122,3 121,6 121,6	— 0,2[2]) — 0,9 — 0,9	1,5 1,5 1,5
p Nitrochinolin	148	148,8	1,5	± 0,8	148,6	+ 0,6	2,0
Hydrochinon (169)	172	174	2,0	+ 2 (+ 5)	174	+ 2 (+ 5)	8,4
Salicin	200— 201	207	2,0	+ 6 (+ 7)	207	+ 6 (+ 7)	21,0
9,10-Dibromanthracen	221	227— 229 222	2,0 24,0	+ 6 (+ 8) + 1	228 228,7	+ 7 + 7,7	24,4 27,0
Nikotinsäure	228— 229	236	2,0	+ 7 + 8	236	+ 8	27,4
Ninhydrin	239— 240	249,5	?	+ 9,5 +10,5	—	—	—
Alizarin	289— 290	301	2,0	+11 +12	201	+11,5	38,6

[1]) Nach Abb. 2.

[2]) Liegt innerhalb der Fehlergrenze von ± 0,5°.

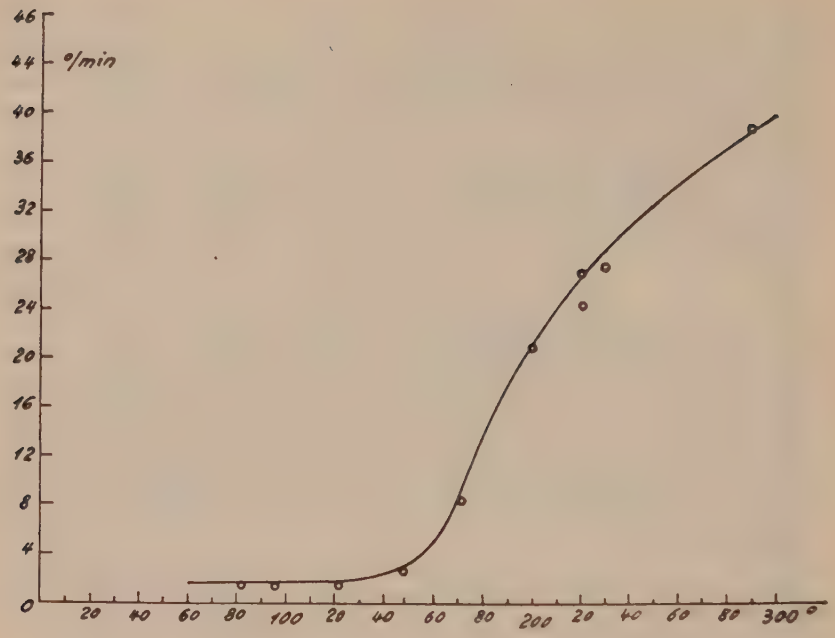


Abb. 4.

Die zur Erreichung theoretischer Werte erforderlichen Temperatursteigerungsgeschwindigkeiten.

führbar, da sich bei höheren Temperaturen die notwendige (große) Steigerungsgeschwindigkeit mit den dem Apparat beigegebenen Widerständen nicht mehr erzielen läßt. Dazu kommt noch, daß sich die Steigerungsgeschwindigkeit nur sehr mühsam mit der nötigen Genauigkeit einregulieren läßt. Man wird also am besten auf diese Art zu schmelzen verzichten und besser Korrekturen anderer Art verwenden.

Am geeignetsten scheint folgendes Verfahren zu sein:

Man stellt nach Abb. 3 den Widerstand nach dem zu erwartenden Schmelzpunkt auf eine bestimmte, für alle Bestimmungen konstant bleibende Steigerungsgeschwindigkeit ein, bestimmt die Steigerungskurve und den °min-Wert des Schmelzpunktes sowie die Schmelzpunktablesung. Den geringen Fehler, der sich daraus ergibt, daß die Steigerungsgeschwindigkeit nicht bei allen Bestimmungen völlig gleich gehalten werden kann, korrigiert man

dann durch Umrechnung nach Abb. 1 ($Y = 3{,}1\,X$)[4]), wie es in Tabelle 2, in Kolonne 6, für 2 °/min geschehen ist. Auf diesem Wege stellt man sich nun für jeden Apparat eine einmalige Eichtabelle her. In einem Koordinatensystem trägt man auf der

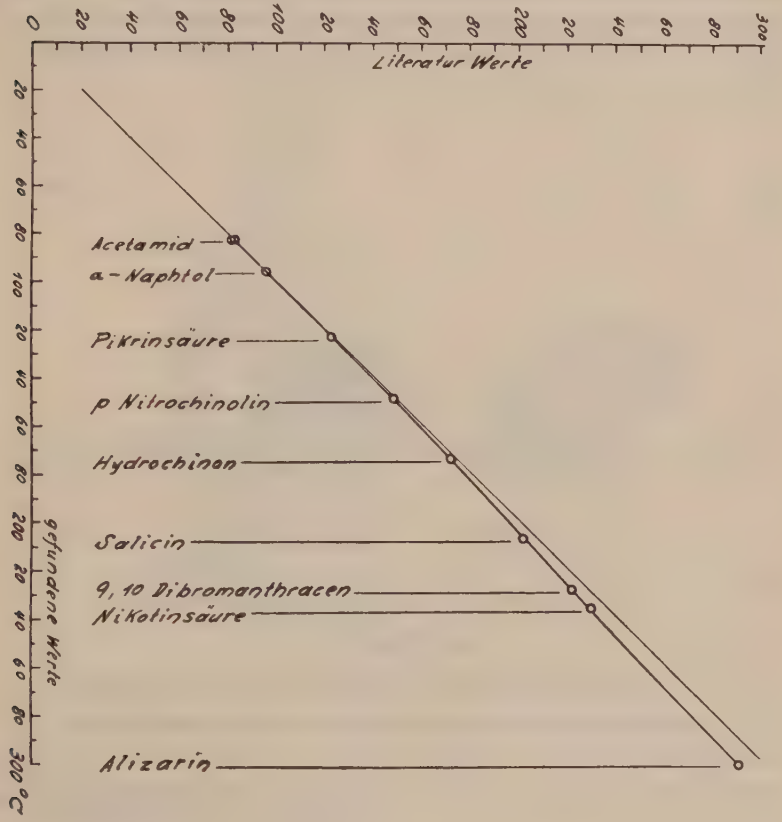


Abb. 5.

Y-Achse die theoretischen Schmelzpunkte der Testsubstanzen auf und auf der X-Achse die für z. B. 2°/min berechneten Werte (Abb. 5). Es ergibt sich eine nach X abgebogene Kurve[5]), deren

[4]) Vergl. dazu die Anmerkung auf Seite 258.

[5]) Der hier als Beispiel angeführte Apparat zeigt besonders große Abweichungen und wurde deshalb als Beispiel gewählt. Bei anderen Apparaten werden die Fehler oft so gering, daß die Korrektionskurve angenähert zur Geraden wird.

Abweichung von der 45°-Linie die Fehler des Apparats bei jeder Temperatur angibt.

Das Zwischenschalten von Plättchen zwischen Heizplatte und Thermometer vermindert die Neigung der Korrektionskurve. Ähnlichen Einfluß übt auch ein über das Präparat gestülptes Uhrglas aus. Man verwendet zu diesem Zweck kleine, quadratische Objektträger, so daß das Uhrglas ihn völlig überdeckt und flach am Objekttisch aufliegen kann.

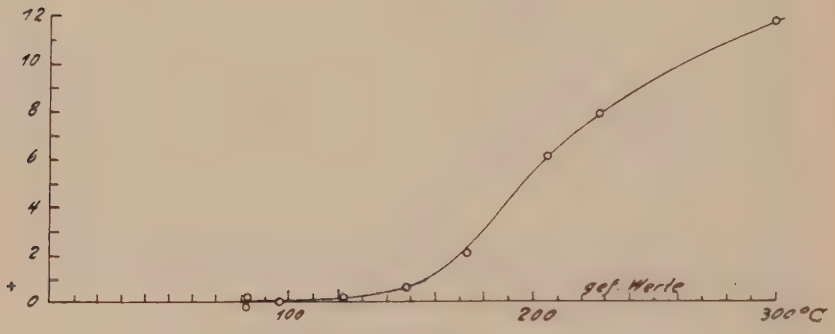


Abb. 6.

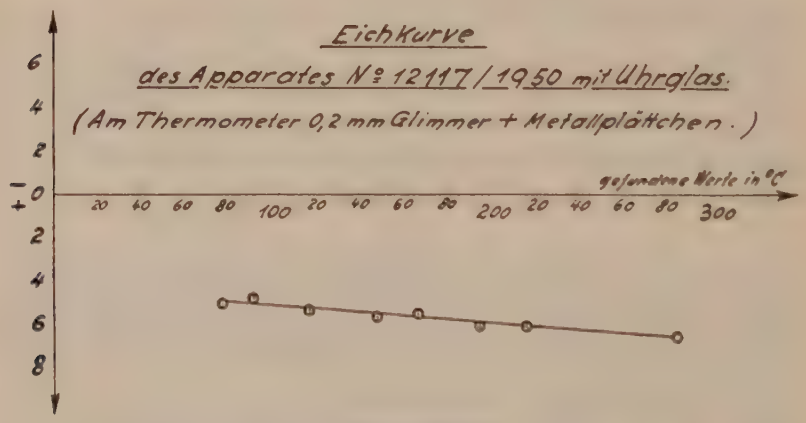


Abb. 7.

Abb. 7 zeigt die Korrektionskurve (entsprechend der Abb. 6) bei Verwendung eines Uhrglases und für einen Apparat, dessen

Fehler ohne Uhrglas bei 100° ±0°, bei 200° — 4° und bei 300° —7° betragen.

Zur Bestimmung des wirklichen Schmelzpunktes aus dem Abgelesenen ist diese Kurve jedoch zu ungenau. Man verwendet zu diesem Zweck eine Korrektionskurve, wie sie Abb. 6 darstellt.

Auf der X-Achse sind die für 2° min berechneten Ablesungs-

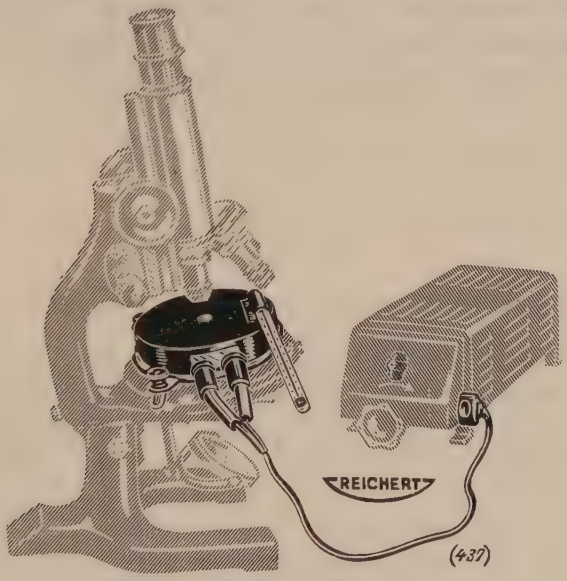


Abb. 8.
Der Mikroschmelzpunktapparat nach KLEIN.

werte aufgetragen, auf der Y-Achse die Differenzen dieser Werte gegen die theoretischen. Nach Berücksichtigung dieser Differenz (2° min-Wert-Differenz = theoret. Wert) hat man den tatsächlichen Schmelzpunkt gefunden.

Mag dieses hier angegebene Verfahren auch etwas umständlich sein, so arbeitet es doch mit großer Sicherheit und bietet gegenüber anderen Methoden so viele Vorteile, daß sich der Aufwand an Sorgfalt und Mühe lohnt.

Zusammenfassung.

1. Es werden die Möglichkeiten besprochen, die der Mikroschmelzpunktapparat nach G. KLEIN zur physikalischen Identifikation von Substanzen, bezw. Reaktionsprodukten bietet.

2. Es werden die möglichen Fehler bei der Bestimmung der substanz-charakteristischen Punkte geprüft und ein Verfahren angegeben, das eine sichere und genaue Korrektion der gefundenen Werte gestattet.

3. Das Verfahren zur Korrektion wird an einem Apparat, der große Fehler aufweist, demonstriert, um es deutlich darstellen zu können. Die Fehler sind für jedes Exemplar des Apparats anders. und also für jeden neuen Apparat neu zu bestimmen. Auch nach jeder Änderung am Apparat hat dies zu geschehen.

Quantitative micro-analytical determination of certain hydroxy acids by means of the photo-electric cell.

By **Arthur S. Williams**[1]), **Ralph H. Müller** and **Joseph B. Niederl.**

Department of Chemistry, Washington Square College, New York University New York, N. Y.

(Eingelangt am 29. August 1930.)

It has been known for a long time that the reaction between certain hydroxy-acids with ferric chloride is accompanied by a more or less marked color change. The production of color during reaction immediately suggests the possibility of utilizing such color change as a basis for analytical procedures. In some cases, however, the intensity of the color produced is very faint, thus making impossible or at least impracticable to make use of visual methods of observation. Under such conditions resort to objective methods observation is desirable. Of the compounds producing color with ferric chloride the following systems have been studied during this investigation:

A. Aliphatic hydroxy-acids with ferric chloride:

a. Mono-hydroxy mono-basic acids:

1) Lactic acid.

b. Mono-hydroxy poly-basic acids:

2) Citric acid.

c. Poly-hydroxy poly-basic acids:

3) Tartaric acid.

[1]) This work is from a thesis presented by ARTHUR S. WILLIAMS in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy at New York University.

B. Aromatic hydroxy-acids with ferric chloride:
  d. Mono-hydroxy mono-basic acids:
    4) a. Salicylic acid.
      b. Sodium salicylate.

In some of these cases the color developed is very faint and also being in the yellow part of the spectrum makes visual differentiation difficult. Since the photo-electric cell is capable of measuring light intensity with great accuracy, it is readily adapted to measurements such as required here.

Apparatus.

The apparatus used in these investigations was the photo-electric photometer embodying one stage of amplification. Numerous investigators have made use of this or a similar arrangement in connection with various applications of the photo-electric cell. Among the early investigators who employed photo-electric cells were ELSTER and GEITEL (1, 2, 3, 4) who used a zinc sphere, as a photometer, and also a potassium cell in measuring daylight and sunlight. SCHULZ (5) used the method to measure the light from fixed stars, and KUNZ and STEBBINS (6) and STEBBINS (7) used it in astronomical observations. The particular type used here was that developed by MÜLLER and PARTRIDGE (8) and used by them in hydrogen ion measurements. A schematic arrangement of the circuit is shown in Figure 1.

(P′) represents the photo-electric cell, (R) a high resistance, (A) a milliammeter connected in series with the battery (B′) which supplies the potential for the plate (P) of the amplifying tube (V) and also for the photo-electric cell (P′). (B) represents the source of current for illuminating the filament (F) of the amplifying tube. (B″) is a bias battery for controlling the grid potential and for obtaining a balance in the grid (G), and (R′) is a variable resistance for controlling the filament current.

The principle of operation of the circuit is as follows: The filament (F) is lighted and allowed to become constant. This requires from fifteen minutes to one hour depending upon the constancy of the battery (B). The potential supplying the photo-electric cell (P′) and the plate (P) of the amplifying tube is then turned on, and the plate current established at some con-

venient value by means of the bias battery (B″). When the photo-electric cell is now illuminated, the current produced increases the plate current to a maximum value, as read on the milliammeter. The difference between the minimum reading without illumination and the maximum value with full illumination constitutes the range over which measurements can be made with this source of light. In this circuit the normal plate current indicated by the milliammeter is a function of the grid to filament potential, other operating conditions remaining constant. Variation of the grid potential occurs when a photo-electric current flows through the high resistance (R). The grid potential is a linear function of the photo-electric current (E=Ri) and therefore also of the light intensity. The resultant intensity, as is shown by the curve in Fig. 2, deviates from this linear relation only by the mutual conductance of the tube.

The arrangement of the apparatus used with this circuit is shown schematically in Fig. 3. (L) represents the light source, which consisted of a 6-volt mazda lamp, (F) a Corning filter, (T) the tube containing the solution being measured, (P) the photo-electric cell, (V) the amplifying tube, and (A) the milliammeter. It is readily observed from this arrangement that the light transmitted by any substance placed in the light path affects the photo-electric cell, and this effect is measured by the plate current, as indicated by the milliammeter. This current is a measure of the photo-electric current and is a function of the intensity of the light striking the cell.

The following method was found to be capable of great sensitivity and precision and is subject to but one serious handicap, that is, it requires a constant source of light. Since the light intensity of an incandescent lamp varies approximately as the five-halves power of the voltage, and also changes with respect to spectral distribution it will be seen that great demands are made upon the source of current supplying it. In carrying out the measurements described below it was found that the light intensity was not absolutely constant over a time interval of several hours. This, of course, was due to the fact that the battery supplying the light source was gradually discharging and this change in potential affected the intensity of the light. When

readings were made over a period not greater than one hour this factor was not sufficiently important to affect the results. However, when measurements extended over a period of six to ten hours, as was frequently the case, this change in light intensity was very noticeable. In order to determine the extent of this variation and to reduce all measurements to corresponding conditions, the use of solutions of standard and unvarying light transmission was introduced. Since the potential supplying the lamp could be controlled, within certain limits, by means of the rheostat in the circuit (R′ in Fig. 1), it was only necessary to check the transmission from time to time by means of these standards and readjust the lamp current so that the standard gave the same reading as before.

Preparation of standard solutions.

1. The Standard Chromate Solutions.

In order to be able to make this adjustment rapidly and accurately a series of solutions was prepared containing varying concentrations of potassium chromate, made alkaline with potassium hydroxide. The concentration of chromate was varied so that, when measured in the photo-colorimeter, the plate current readings differed by approximately a constant value and covered the entire range between the maximum and minimum possible with the source of light used.

The actual preparation of the solutions was carried out as follows: A solution of potassium chromate, of approximately 0,1 molar concentration, was prepared, using BAKER's C. P. material, and this solution was made approximately 0.05 molar with potassium hydroxide. From this solution seven standards were then prepared by diluting with different amounts of water in such manner that their light transmission, as indicated by the plate current readings, was distributed as described above. Ten cubic centimeters of each solution was then placed in separate test tubes, stoppered tightly, and in this condition were used in checking the light intensity. It should be pointed out that this is an entirely arbitrary method of preparing standards and the only requirement in making such a choice is that the solutions be stable. The results of this standardization are given below in Table 1.

TABLE 1.

Tube No.	K_2CrO_4 cc	H_2O cc	Total Vol. cc	CrO_4 %	Average Plate Current
1	0,25	9,75	10,00	2,5	1,285
2	0,50	9,50	10,00	5,0	1,209
3	1,00	9,00	10,00	10,0	1,147
4	2,00	8,00	10,00	20,0	1,072
5	3,00	7,00	10,00	30,0	1,031
6	4,00	6,00	10,00	40,0	1,001
7	5,00	5,00	10,00	50,0	0,979

Since these solutions were used in test tubes it was necessary that each tube be placed in the colorimeter in the same relative position for each measurement so that any variation in the diameter or wall thickness of the tube and, therefore, the depth of solution, would not introduce an error. To accomplish this each tube was marked with a reference mark and the tube was placed in the colorimeter in such manner that this mark was always in the same relative position to a similar reference mark on the tube holder.

Procedure for making measurements.

In making measurements on any solution the procedure was as follows: The minimum and maximum range of the light source was determined by taking readings with the photo-electric cell entirely screened from the light and again with full light exposure. The readings for the different standards were then taken and recorded. The standard whose reading was nearest the middle of the scale range, that is, mid-way between the minimum and maximum of the range, was chosen as the standard of reference for the other standards. The solution being measured was then placed in the holder and its approximate reading determined. Then the standard whose reading was nearest to this approximate reading was placed in the holder to ascertain whether its value had changed, if it had, then the necessary adjustment in the light source was made and the solution was again measured to get a corrected reading. This was repeated until successive readings of the solution were in agreement.

2. Standardization of Ferric Chloride Solution.

A standard solution of ferric chloride was prepared by dissolving 2,7022 grams of BAKER's C. P. hexa-hydrate in water and diluting to one liter. Enough hydrochloric acid being added to make the solution 0,005 molar with respect to the acid. Since an excess of this solution was present in all measurements involving its use no further standardization was necessary. It might be mentioned at this point that several solutions of ferric chloride were prepared containing concentrations of hydrochloric acid varying from 0,002 molar to 0,01 molar and it was found that with concentrations less than 0,005 molar the solution hydrolyzed too rapidly to justify its use. With a concentration of 0,005 molar or greater no hydrolysis, as indicated by a change in color, was noticeable over a period of three months. When the solutions were diluted, however, hydrolysis was noticeable within a few hours. It is, of course, evident that any change in the density of color of the ferric chloride solution would affect materially the plate current readings. If, therefore, such a change should take place during a series of measurements it would be impossible to obtain check results. This factor was met with quite frequently during the early part of this investigation and the results obtained in one such case are given in Table 2.

TABLE 2.

Milligrams Lactic Acid	Average Plate Current in Milliamperes: At mixing	One hour latter	
0,0000	1,272	1,270	(Ferric chloride alone)
0,0431	1,267	1,267	
0,0862	1,256	1,256	
0,2155	1,227	1,210	
0,3017	1,211	1,199	
0,4309	1,190	1,176	
0,5847	1,171	1,158	
0,8618	1,146	1,137	
1,0340	1,134	1,128	
4,3090	1,124	1,121	
2,0680	1,120	1,120	
2,5680	1,120	1,120	
3,4470	1,120	1,120	

When these results are plotted the curves shown in Figure 4 are obtained. Curve 1 shows the results obtained immediately after preparing the ferric chloride solution and Curve 2 the results obtained with the same solution after it had stood for about one hour.

A. Aliphatic Hydroxy-Acids and Ferric Chloride.

1. The Determination of Lactic Acid.

The importance of lactic acid commercially and in physiological processes has served to stimulate interest in this subject. As a result a number of methods for the quantitative determination of lactic acid have been developed. According to ALLEN (9) none of these methods is free from objection. This is partly due to the fact, that most of the methods are based upon the oxidation of the acid to acetaldehyde, or acetic acid and the presence of other interfering substances which are likely to be mistaken or reported as lactic acid. Gravimetric methods have been described by BUCHNER and MEISENHEIMER (10) using the zinc salt, KUNZ (11) using the barium salt, which TRUMMER (12) claims the most accurate method, and PALM (13) who uses Lead acetate with alcoholic ammonia to form this basic lead lactate. Among oxidation methods, that of JERUSALEM (14) is noteworthy. In addition there are a number of micro-analytical methods most of which are based upon oxidation to aldehyde or acetic acid. Of these, the methods described by RIPPER and WOHACK (15), LAQUER (16), CLAUSEN (17), HIRSCH and KAUFMAN (18), MEYERHOF (19), HANSEN (20), BREHME and BRAHDY (21), FREIKA and VSETECKA (22), TSUKASAKI (23), WARKENY (24), RONZONI and WALLEN-LAWRENCE (25), and others, are characteristic. The greatest accuracy claimed by any of these is the determination of amounts as small as 0,2 milligram with an accuracy of 3 percent.

A number of colorimetric methods also have been developed, namely that of HARROP (26) which is based upon the color produced in the reaction of guaiacol with sulphuric acid, that of MENDEL and GOLDSCHEIDER (27) based upon the color produced with veratrol and sulfuric acid, that of RYFFEL (28) using

SCHIFF's reagent, that of POLONOWSKI (29) using codeine and sulfuric acid, and that of DISCHE and LASZLO (30), and others.

It has long been known that lactic acid reacts with ferric chloride with the production of a yellow color. However, so far as known, this reaction has not been used heretofore for the colorimetric estimation of lactic acid. The great sensitivity of the photo-electric cell and the results obtained through its use, made it appear promising to investigate this method. Accordingly, the determinations described below were carried out.

A standard solution of lactic acid was prepared by dissolving 0,9005 gram of KAHLBAUM's C P. material in water and diluting to one liter. This solution was then titrated with 0,09975 normal sodium hydroxide.

From this titration the lactic acid was found to be 0,009576 molar, thus containing 0,8624 grams per liter or 0,8624 milligrams per cubic centimeter.

Using a 0,01 molar ferric chloride solution, 10 cc portions were pipetted into test tubes and varying amounts of lactic acid were added to drop-wise from a micro burette. The results thus obtained are given in Table 3.

TABLE 3.

Milligrams Lactic Acid	Average Plate Current	Milligrams Lactic Acid	Average Plate Current
0,0355	1,208	0,4970	1,131
0,0710	1,198	0,5680	1,122
0,1065	1,189	0,6390	1,117
0,1420	1,180	0,7100	1,111
0,1775	1,175	0,8875	1,098
0,2485	1,158	1,0650	1,087
0,3195	1,152	1,2430	1,076
0,3550	1,149	1,4200	1,067
0,3905	1,146	1,7750	1,051
0,4260	1,141	Ferric chloride alone	1,218

From the above data the curve shown in Figure 5 was obtained. At the same time unknowns were prepared and their correspon-

ding plate current readings obtained. These readings were then referred to the curve in Figure 5 and the corresponding amounts of lactic acid determined. These results are given in Table 4.

TABLE 4.

Milligrams taken	Average Plate Current	Milligrams found	Deviation	Percent error
0,1065	1,189	0,1065	0,0000	0,00
0,2130	1,165	0,2200	0,0070	3,20
0,2840	1,155	0,2860	0,0020	0,70
0,4615	1,135	0,4520	0,0115	2,50
0,7100	1,111	0,7100	0,0000	0,00

Average error 1,28%. Average deviation 0,0041 milligram.

By means of this method it is found possible to determine lactic acid in amounts varying from 0,1065 mg. to 0,7100 mg. with an average error of 1,28% and an average deviation of 0,0041 milligram.

2. The Determination of Citric Acid.

The gravimetric determination of citric acid as the calcium salt has been described by ALLEN (31) and HARRINGTON (32) and by the formation of the penta-brom-acetone compound by KUNZ (33). The latter method is considered the most accurate but is very tedious and complicated. The formation of the mercury-acetone compound has also been used by PRATT (34) and a similar method described by ALLEN (35) is said to be accurate to 0,3 to 0,4 milligram, where the original content was beetwen 1 and 40 milligrams. Furthermore, where the acid is known to be free from other interfering substances, it can be titrated readily with standard alkali.

Colorimetric methods have been described by DENIGES (36), SCHMALFUSS and KEITEL (37) and others. Of these the most accurate claims a precision of 2 percent in amounts of 2 milligrams.

When citric acid is allowed to react with ferric chloride a yellow color is produced and this color increases in intensity with increasing concentration of the acid, the ferric chloride being

present in excess. In this investigation, the yellow color thus produced, was measured photo-electrically and made the basis of a method for determining the acid quantitatively. So far as known, no method has been described heretofore which utilizes this reaction for the determination of citric acid.

A standard solution of citric acid was prepared by dissolving 3,1811 grams of BAKER's C. P. acid mono-hydrate in distilled water and diluting to one liter. This solution was then titrated against 0,09975 normal sodium hydroxide solution using 20 cc portions of acid for each titration and found to be 0,01164 molar. Thus it contained 2,4457 grams per liter and 2,4457 milligrams per cubic centimeter.

The 0,01 molar ferric chloride solution prepared as described above was diluted to 0,001 molar with distilled water. Ten cubic centimeter portions of this solution were placed in the test tube and the solution alone first measured in the colorimeter. Varying amounts of citric acid were then added by means of a micro burette and after mixing thoroughly these were like wise measured in the colorimeter. These results are given in Table 5.

TABLE 5.

Milligrams Citric Acid	Average Plate Current	Milligrams Citric Acid	Average Plate Current
0,1328	1,244	1,5930	1,119
0,2655	1,233	1,8585	1,089
0,5310	1,210	2,1240	1,068
0,7965	1,194	2,3895	1,058
1,0620	1,170	2,6550	1,055
1,3280	1,144	Ferric chloride alone	1,245

From the above data the curve shown in Figure 6 was obtained. A study of this curve indicates an absence of a smooth relationship between plate current and concentration of citric acid. It was thought that errors might have entered as a result of making the burette readings. Therefore, another series of measurements was made in which the acid was added to dropwise. The total of a large number of drops was then referred to the total volume of acid used and the volume and concentration per drop thereby obtained. These results are shown in Table 6.

TABLE 6.

Milligrams Citric Acid	Average Plate Current	Milligrams Citric Acid	Average Plate Current
0,1082	1,253	2,1640	1,112
0,2164	1,240	2,7050	1,091
0,3246	1,229	3,2460	1,072
0,4328	1,219	3,7870	1,058
0,6492	1,201	4,3280	1,043
0,8656	1,180	4,8690	1,032
1,0820	1,168	5,4100	1,022
1,6230	1,139	6,4920	1,006

Ferric chloride alone 1,269.

From this data the curve shown in Figure 7 was obtained. At the same time a number of unknowns were prepared and their corresponding plate current readings obtained. These readings were then referred to the curve in Figure 7 and the amounts of citric acid corresponding to these plate current readings determined. These results are given in Table 7.

TABLE 7.

Milligrams taken	Average Plate Current	Milligrams found	Deviation	Percent error
0,2164	1,240	0,2164	0,000	0,00
0,4328	1,219	0,4328	0,000	0,00
1,0820	1,170	1,0680	0,014	1,29
1,7310	1,134	1,7200	0,011	0,63
2,1640	1,112	2,1640	0,000	0,00
2,7050	1,091	2,7050	0,000	0,00
3,7870	1,057	3,7600	0,027	0,71

Average deviation 0,0074. Average error 0,39%.

By means of this method it is found possible to determine citric acid in concentrations varying from 0,2164 milligrams to 3,7870 milligrams with an average deviation of 0,0074 milligram or an average error of 0,39%.

3. The Determination of Tartaric Acid.

Most of the methods available for the determination of tartaric acid are based upon gravimetric procedures. According to ALLEN (38) the best method for the direct estimation by precipitation as potassium hydrogen tartrate. Other gravimetric methods have been described, for example, the precipitation as calcium racemate by KLING (39) (40), with subsequent titration with permanganate, also the methods of RIPPER and WOHACK (15) and of KLEIN and WERNER (41). These methods, however, are applicable only to comparatively large quantities of material. A few colorimetric methods are in use, for example, those of SCHMALFUSS and KEITEL (37) and of EKKERT (42) which are based upon the quantitative estimation of the decomposition products of the acid.

So far as known the use of the yellow color produced by the reaction of the acid with ferric chloride has not been used for colorimetric determination.

A standard wolution of tartaric acid was prepared by dissolving 1,6809 grams of MERCK's C. P. tartaric acid mono hydrate in distilled water and diluting to one liter. This solution was then titrated against 0,09975 normal sodium hydroxide solution, using 20 cc portions of the acid for each titration and found to be 0,01122 molar, thus containing 1,6843 grams per liter or 1,6843 milligrams per cubic centimeter.

Using 0,001 molar ferric chloride in 10 cc portions as with citric acid above (p. 8) the tartaric acid was added in varying amounts from a micro burette. After mixing thoroughly the mixtures were measured in the colorimeter with the results given in Table 8.

TABLE 8.

Milligrams Tartaric Acid	Average Plate Current	Milligrams Tartaric Acid	Average Plate Current
0,0943	1,228	0,9430	1,095
0,1886	1,207	1,1130	1,079
0,3772	1,167	1,5090	1,061
0,5658	1,141	1,8860	1,060
0,7355	1,115	Ferric chloride alone	1,268

From the above data the curve shown in Figure 8 was obtained.

At the same time unknowns were prepared and their corresponding plate current readings obtained.

These readings were then referred to the curve in Figure 8 and the corresponding amounts of tartaric acid determined. These results are given in Table 9.

TABLE 9.

Milligrams taken	Average Plate Current	Milligrams found	Deviation	Percent error
0,3772	1,167	0,3744	0,0028	0,74
0,4715	1,150	0,4752	0,0037	0,78
0,5082	1,147	0,4968	0,0114	2,24
0,6035	1,131	0,6048	0,0013	0,21
0,8110	1,105	0,8196	0,0086	1,06

Average deviation 0,0056. Average error 1,01 percent.

By means of this method it is found that tartaric acid in amounts varying from 0,3772 milligrams to 0,8110 milligrams can be determined with an average deviation of 0,0056 milligrams and an average error of 1,01 percent.

A determination was also made using the method of adding the acid dropwise and by using 0,01 molar ferric chloride instead of 0,001 molar. The results obtained in these measurements are given in Table 10.

TABLE 10.

Milligrams Tartaric Acid	Average Plate Current	Milligrams Tartaric Acid	Average Plate Current
0,0724	1,239	1,0136	1,061
0,2172	1,189	1,0860	1,058
0,2896	1,169	1,2310	1,051
0,3620	1,152	1,3760	1,042
0,4344	1,141	1,5200	1,032
0,5068	1,129	1,6660	1,028
0,5792	1,118	1,8100	1,020
0,6516	1,108	2,1720	1,009
0,7240	1,098	2,5340	0,998
0,7964	1,088	2,8960	0,989
0,8688	1,079	3,6200	0,970
0,9412	1,070	4,3440	0,959

Ferric chloride alone 1,271.

From the above data the curve shown in Figure 9 was obtained. At the same time unknowns were prepared and their corresponding plate current readings obtained. These readings were then referred to the curve in Figure 9 and the corresponding amounts of tartaric acid determined.

TABLE 11.

Milligrams taken	Average Plate Current	Milligrams found	Deviation	Percent error
0,2896	1,169	0,2896	0,0000	0,00
0,5068	1,130	0,5010	0,0000	1,14
0,8688	1,079	0,8688	0,0000	0,00
1,2310	1,050	1,1940	0,0370	3,00
1,8100	1,021	1,7940	0,0160	0,88

Average deviation 0,0118 milligram. Average error 1,00%.

By means of this method it is found that tartaric acid in amounts varying from 0,2896 milligram to 1,8100 milligrams can be determined with an average deviation of 0,0118 milligram and an average error of 1,00 percent.

B. Aromatic Hydroxy Acid and Ferric Chloride.

4a. The Determination of Salicylic Acid.

As in the case of the other acids studied in this investigation salicylic acid can be determined by titration with standard alkali, when known to be free from interfering substances. In addition, there are other volumetric methods, for example, that of Freyer (43) using a standard bromine solution, which is valuable when benzoic acid is present, and that of Telle (44) using an acid solution of potassium bromide and sodium hypochlorite. Messenger and Vortmann (45—46) propose precipitation with iodine in alkaline solution, as sodium di-iodo-salicylic iodide, and Seidell (47) titrates with a bromate solution.

The violet color produced by the reaction of salicylic acid with ferric chloride, has been used by numerous investigators (40) as a basis for colorimetric determination of the acid. The method is particularly suited to the estimation of small amounts. Among the early users of this method might be mentioned Mutter (49), Pellet and Grobert (50) and Fajans (51). Harvey (52),

CASSAL (53) and SAUERLAND (54), use ferric alum instead of the chloride. Of the micro methods using ferric chloride that of FRESENIUS and GRUENHUT (55) and FRIEDRICHSEN (56) have been described. The latter claims a precision of 0,01 milligram to 0,02 millgram in dilutions of 1 to 20.000 and 1 to 200.000. There is also the acidimetric method of BERG (57) iodimetric micro methods of STEENBERGEN (58) and KOLTHOFF (59) and the method of SCHOTT (60) using FEHLING's solution.

In the investigation being described here the light transmission as a result of the color produced by the reaction of salicylic acid with ferric chloride was measured photo-electrically with the results given below.

A standard solution of salicylic acid was prepared by dissolving 1,381 grams of MERCK's C. P. material in distilled water and diluting to one liter. This solution was then tritrated with 0,09975 normal sodium hydroxide solution, using 20 cc portions of the acid for each titration, and found to be 0,01007 molar, thus containing 1,391 grams per liter or 1,391 milligrams per cubic centimeter.

Using 0,01 molar ferric chloride, 10 cc portions were pipetted into test tubes and varying amounts of the acid were added dropwise from a micro burette. The results thus obtained are given in Table 12.

TABLE 12.

Milligrams Salicylic Acid	Average Plate Current	Milligrams Salicylic Acid	Average Plate Current
0,0577	1,149	0,7501	0,828
0,1154	1,090	0,8078	0,818
0,1731	1,042	0,8655	0,809
0,2308	1,007	0,9232	0,802
0,2885	0,970	0,9809	0,798
0,3462	0,941	1,0390	0,792
0,4039	0,918	1,0960	0,788
0,4616	0,898	1,1540	0,783
0,5193	0,880	1,2690	0,778
0,5770	0,864	1,3860	0,771
0,6347	0,850	1,7510	0,758
0,6928	0,838	Ferric chloride alone	1,216

From the above data the curve shown in Figure 10 was obtained. At the same time unknowns were prepared and their corresponding plate current readings obtained. These readings were then referred to the curve in Figure 10 and the results are given in Table 13.

TABLE 13.

Milligrams taken	Average Plate Current	Milligrams found	Deviation	Percent error
0,1731	1,038	0,1710	0,0021	1,21
0,3462	0,941	0,3450	0,0012	0,35
0,4039	0,916	0,4080	0,0041	1,00
0,5770	0,864	0,5750	0,0020	0,40
0,8078	0,818	0,8050	0,0028	0,24

Average deviation 0,0024 milligram. Average error 0,64%.

By means of this method it is found possible to determine salicylic acid in amounts varying from 0,1710 milligram to 0,8078 milligram with an average deviation of 0,0024 milligram and an average error of 0,64 per cent. An examination of the above results shows further that in three of the unknows the plate current readings coincide exactly with values of similar amounts of acid found when preparing the curve in Figure 9. However, when the curve has been established the amounts obtained from the curve, corresponding to a given plate current reading, deviate slightly from the actual value of an individual reading.

It has been noted by Yoe (61) and others that the color developed by the reaction between ferric chloride and salicylic acid is unstable and fades upon exposure to light. As a result, methods based upon this color must allow for this fading. In the experiments carried out during this investigation it was found that the fading of color with the concentrations used was not perceptible within a time limit of one hour. Since all determination were completed within fifteen to thirty minutes no correction for this possible error was necessary.

4 b. The Determination of Sodium Salicylate.

Methods previously described for the determination of salicylic acid paarllel closely those for the determination of sodium sali-

cylate. Furthermore, the violet color produced by the reaction of the latter with ferric chloride allows of the application of the same colorimetric methods. An additional method has been described by ALCOCK (65) in which the sodium salicylate is treated with ammonium chloride and the resulting sodium chloride separated and titrated with standard silver nitrate solution.

In this investigation the violet color produced by the reaction of sodium salicylate with ferric chloride was made the basis of a photo-electric method of analysis.

A standard solution of sodium salicylate was prepared by dissolving 1,6010 grams of MERCK's C. P. material in distilled water and diluting to one liter. This solution was not further standardized and it was assumed to be approximately 0,01 molar and therefore containing 1,6010 milligrams per cubic centimeter.

Using 0,001 molar ferric chloride, 10 cc portions were pipetted into test tubes and varying amounts of sodium salicylate were added from a micro-burette. The results thus obtained are given in Table 14.

TABLE 14.

Milligrams Sodium Salicylate	Average Plate Current	
0,0800	1,124	
0,1600	1,069	
0,4000	0,962	
0,8000	0,880	Ferric chloride alone 1,170.

From the above data the curve (2) in Figure 11 was obtained. At the same time unknowns were prepared and their corresponding plate current readings obtained. These readings were then referred to the curve (2) in Figure 11 and the corresponding amounts of sodium salicylate determined. These results are given in Table 15.

TABLE 15.

Milligrams taken	Average Plate Current	Milligrams found	Deviation	Percent error
0,3200	0,987	0,3340	0,0140	4,40
0,4000	0,962	0,4000	0,0000	0,00

Average deviation 0,007 milligram. Average error 2,20%.

This series of measurements was made simply to assure ourselves that the method used with salicylic acid is also appliable to sodium salicylate. And taking into consideration the approximately standard solution of the sodium salicylate it is found that the average deviation is 0,007 milligram and the average error 2,20 percent. It should also be noted that only four points were used in constructing the curve (2) and only two unknowns were prepared. It is quite probable that the error could be greatly reduced by increasing both of these factors.

Another series of determinations was made using 0,001 molar ferric chloride and 0,001 molar sodium salicylate, each prepared by diluting the 0,01 molar solutions used above. The results of these measurements are given in Table 16.

TABLE 16.

Milligrams Sodium Salicylate	Average Plate Current	
0,008	1,160	
0,016	1,158	
0,040	1,139	
0,080	1,117	Ferric chloride alone 1,170.

From this data the curve (1) in Figure 11 was obtained. No unknowns were prepared for comparison in this series of measurement sas the main purpose was to determine if a smooth relationship existed. The results show that such a relationship does exist at this dilution.

Summary.

1) A quantitative method for the determination of certain hydroxy acids has been developed based upon the color produced when these compounds react with ferric chloride. As a means of measuring the light intensity by these colored solutions, the photo-electric colorimeter has been made use of:

2) The precission of the method and the limit of quantitative determination in the discussed cases is as follows:

lactic acid: 0,1 mg., ± 1,3%;

citric acid: 0,2 mg., ± 0,4%;

tartaric acid: 0,3 mg., ± 1,0%;

salicylic acid: 0,2 mg., ± 0,7%;
sodium salicylate: 0,4 mg., ± 2,0%.

Further work to extend this method to other organic color reactions is being carried on.

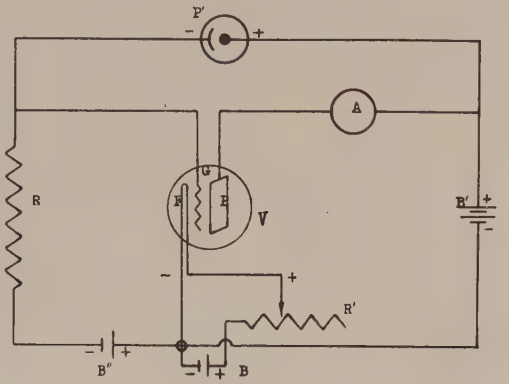
New York, N. Y.

(2) Elster and Geitel, Am. d Physik., **41**, 161 (1890).
(3) Elster and Geitel, Phys. Zeit. **12**, 609 (1911).
(4) Elster and Geitel, Phys. Zeit. **13**, 739—44; 852—58 (1912).
(5) Schulz, Astrophys. Jour., **38**, 187 (1913).
(6) Kunz and Stebbins, ibid, **49**, 137 (1919).
(7) Stebbins, ibid, **51**, 193—218 (1920).
(8) Muller and Partirdge, Jour. Ind. & Eng. Chem., **20**, 423 (1928).
(9) Allen, Com. Org. Anal. Vol. I, p. 771 (Blakistons 1923).
(10) Buchner & Meisenheimer, Ber., **41**, 1416 (1908); **43**, 1784 (1910).
(11) Kunz, Zeit, Nahr. Genußm., **4**, 673 (1901).
(12) Trummer, Zeit. Landw. Vers.-Wesen, **11**, 492 (1908).
(13) Palm, Zeit. anal. Chem., **33**, 16.
(14) Jerusalem, Biochem. Zeit., **12**, 361—79 (1908)
(15) Ripper and Wohack, Zeit. f. Landw. Vers.-Wesen, **22**, 15 (1919).
(16) Laquer, Zeit. Physiol. Chem., 116, 169 (1921).
(17) Clausen, J. Biol. Chem., **52**, 263 (1922).
(18) Hirsch and Kaufman, Zeit. Physiol. Chem., 136, 308 (1924).
(19) Meyerhof, ibid, **141**, 316 (1925).
(20) Hansen, Biochem. Zeit., **167**, 58 (1926).
(21) Brehme & Brahdy, ibid, 175, 348 (1926).
(22) Freika & Vsetecka, Chem. Zentral., **1**, 991 (1916).
(23) Tsukasaki, Tohoku, Jour. Exptl. Med., **5**, 429 (1926).
(24) Warkany, Biochem. Zeit., **184**, 474 (1927).
(25) Ronzoni & Wallen-Lawrence, J. Bio. Chem., **74**, 363 (1927)
(26) Harrop, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., **17**, 162 (1920).
(27) Mendel & Goldscheider, Biochem. Zeit, **164**, 163 (1925).
(28) Ryffel, Jour. Physiol., **39**, V (1909—1910).
(29) Polonowski, Compt. Rend. Soc. Biol., **83**, 475 (1920)
(30) Dische & Laszlo, Biochem. Zeit., **187**, 344 (1927).
(31) Allen, Com. Anal., Vol. I. p. 744.
(32) Warington, J. Chem. Soc., **28**, 934 (1875).
(33) Kunz, Arch. Chem., Micros., **7**, 285 (1914).
(34) Pratt, U. S. Dept. Agr., Bu. Chem., Cir. No. 88 (1912).
(35) Allen, Com. Org. Anal. Vol I, p. 756.
(36) Denigès, Compt. Rend. Soc. Biol., **54**, 197 (1902).
(37) Schmalfuss & Keitel, Zeit. Physiol. Chem., **138**, 156 (1924).
(38) Allen, Com. Org. Anal., Vol. I. pp. 713—18.
(39) Kling, Compt. Rend, **150**, 616 (1910).
(40) Kling & Florentin, 8th Int. Cong. App. Chem., Sec. 1, 237 (1912).
(41) Klein & Werner, Zeit. Physiol. Chem., **143**, 141 (1925).
(42) Ekkert, Pharm. Zentr., **66**, 765 (1926).
(43) Freyer, Chem., Zeit., **20**, 820 (1896).
(44) Telle, J. Pharm. Chem., VI, 13, 49 (1901).
(45) Messenger & Vortmann, Berichte, **23**, 2753 (1890).
(46) Messenger & Vortmann, Jour. Prakt. Chem. II, **61**, 236 (1900).
(47) Seidell, J. Am. Chem. Soc., **31**, 1168 (1909).
(48) U. S. Dept. of Agr. Bull. No. 122, P. 64 (1909).
(49) Muter, Analyst, **1**, 193 (1876).

(50) Pellet & Grobert, Chem. News, **44**, 168 (1881); **45**, 264 (1882).
(51) Fajans, Chem. Zeit., **17**, 69 (1893).
(52) Harvey, Analyst, **28**, 2 (1903).
(53) Cassal, Chem. News, 101, 289 (1910).
(54) Saverland, Biochem. Zeit., **40**, 67 (1912).
(55) Fresenius & Gruenhut, Zeit. Anal. Chem., **60**, 257 (1921).
(56) Friedrichsen, Arch. Exptl. Path. Pharmacol., **80**, 235 (1917).
(57) Berg, Chemiker-Zeitung, **43**, 129 (1919).
(58) Steenbergen, Chem. Weekblad, **14**, 914 (1918).
(59) Kolthoff, Marm. Weekblad, **58**, 699 (1921).
(60) Schott, Zeit Nahr. Genußm., **22**, 727 (1911).
(61) Yoe, Photometric Chem. Anal. Wiley & Sons (1929).
(62) Partridge, Ind. Chem. Eng., analytical division, 213, 207 (1930).

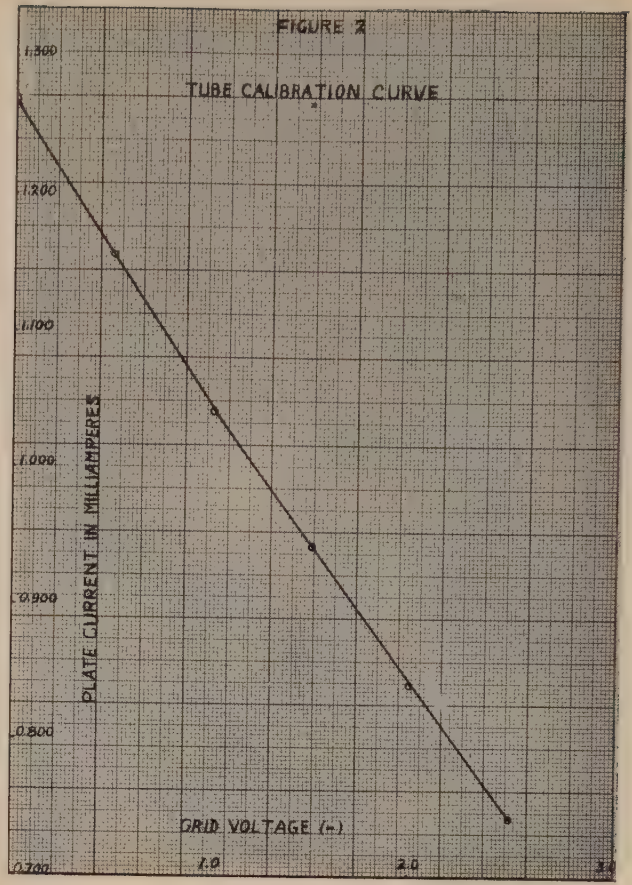
FIGURE 1

CIRCUIT FOR USE WITH A PHOTOELECTRIC CELL
EMPLOYING ONE STAGE OF AMPLIFICATION



A - MILLIAMETER
R - RESISTANCE IN BIAS CIRCUIT
R - VARIABLE RESISTANCE IN FILAMENT CIRCUIT
B - SOURCE OF E.M.F. FOR AMPLIFYING FILAMENT
B - SOURCE OF E.M.F. FOR PHOTOELECTRIC CELL
B - SOURCE OF E.M.F. FOR BIAS CIRCUIT
P - PHOTOELECTRIC CELL
V - AMPLIFYING TUBE
F - FILAMENT; G - GRID; P - PLATE

FIGURE 2



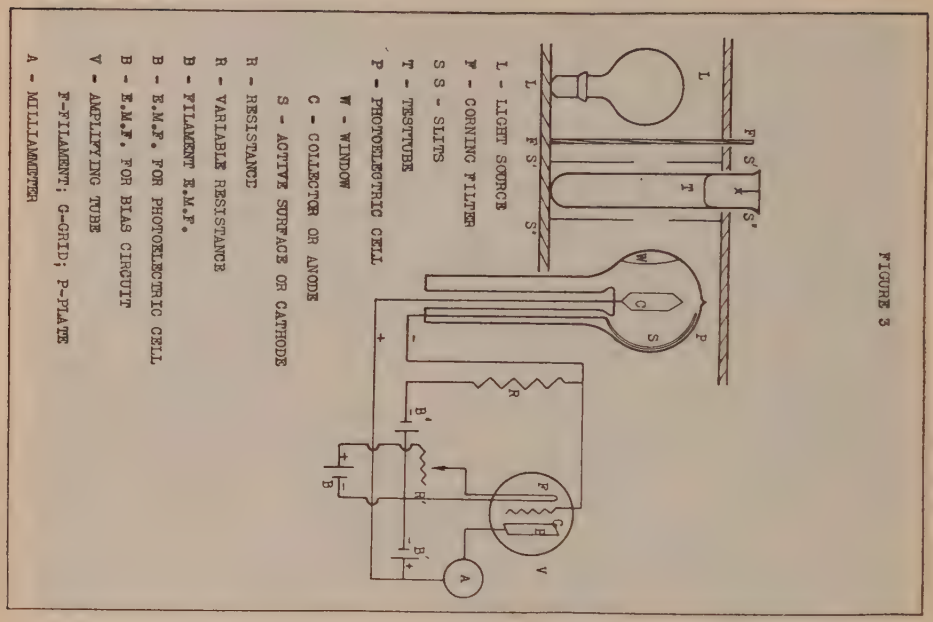

L - LIGHT SOURCE
F - CORNING FILTER
S S - SLITS
T - TESTTUBE
P - PHOTOELECTRIC CELL
W - WINDOW
C - COLLECTOR OR ANODE
S - ACTIVE SURFACE OR CATHODE
R - RESISTANCE
R - VARIABLE RESISTANCE
B - FILAMENT E.M.F.
B - E.M.F. FOR PHOTOELECTRIC CELL
B - E.M.F. FOR BIAS CIRCUIT
V - AMPLIFYING TUBE
F-FILAMENT; G-GRID; P-PLATE
A - MILLIAMMETER

FIGURE 3

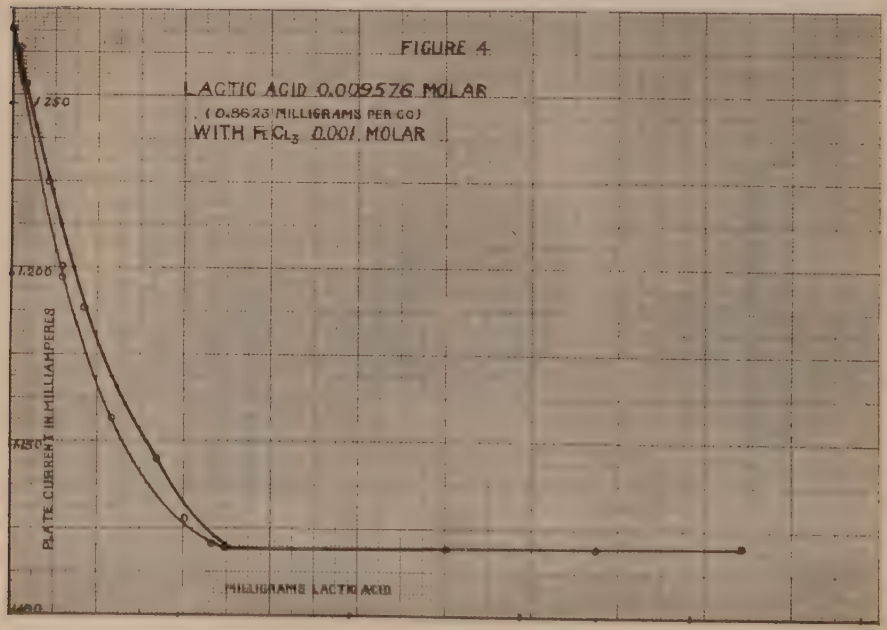


FIGURE 4
LACTIC ACID 0.009576 MOLAR
(0.8623 MILLIGRAMS PER CC)
WITH FeCl3 0.001 MOLAR
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS LACTIC ACID

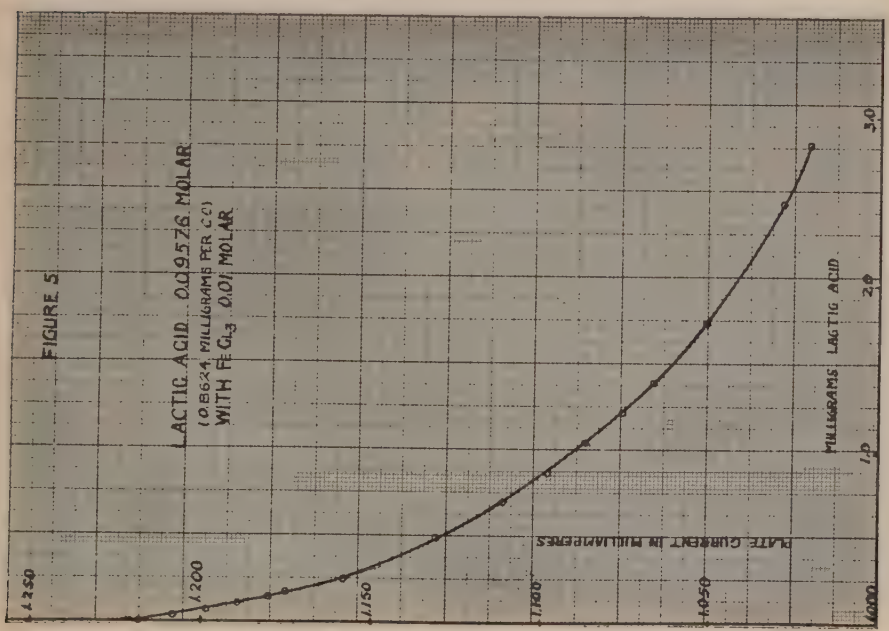


FIGURE 5
LACTIC ACID 0.09576 MOLAR
(10.8624 MILLIGRAMS PER CC)
WITH $FeCl_3$ 0.01 MOLAR
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS LACTIC ACID

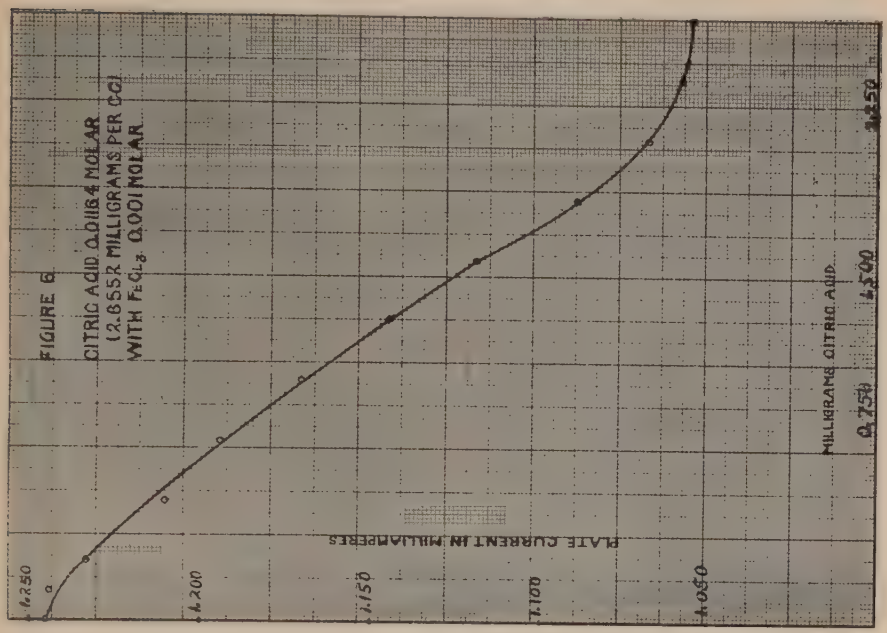


FIGURE 6
CITRIC ACID 0.01184 MOLAR
(2.8552 MILLIGRAMS PER CC)
WITH $FeCl_3$ 0.001 MOLAR
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS CITRIC ACID

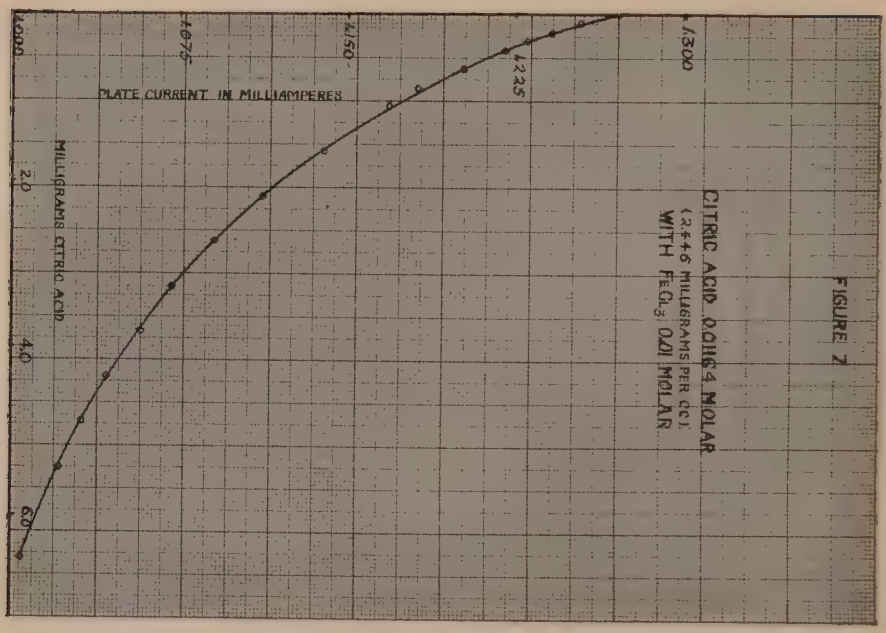


FIGURE 7
CITRIC ACID 0.0164 MOLAR
(2.446 MILLIGRAMS PER CC.)
WITH $FeCl_3$ 0.01 MOLAR
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS CITRIC ACID
1.300
1.225
1.150
1.075
1.000
2.0
4.0
6.0

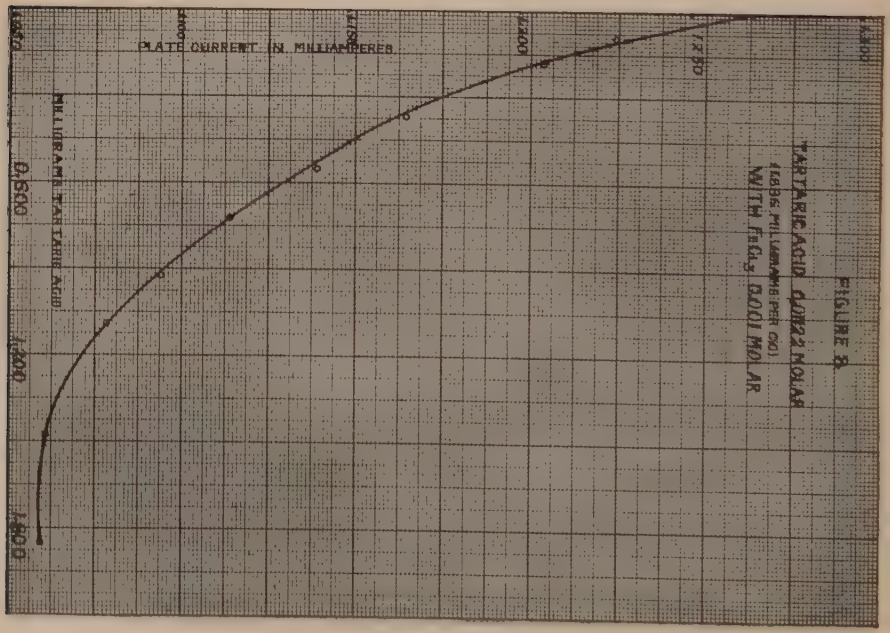


FIGURE 8
TARTARIC ACID 0.0122 MOLAR
(1.836 MILLIGRAMS PER CC.)
WITH $FeCl_3$ 0.001 MOLAR
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS TARTARIC ACID
1.400
1.350
1.300
1.250
1.200
0.600
1.200
1.800

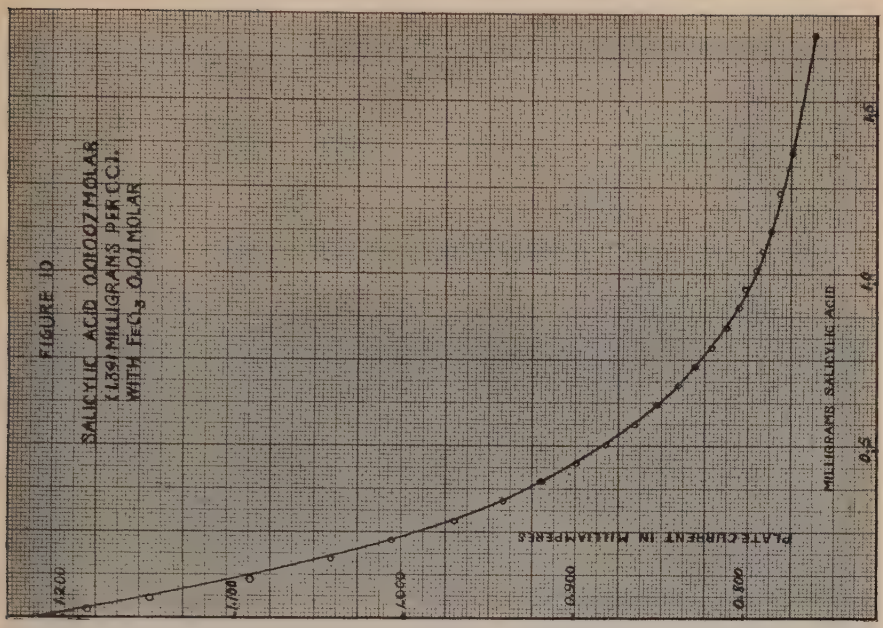


FIGURE 10
SALICYLIC ACID 0.0007 MOLAR
1.391 MILLIGRAMS PER C.C.
WITH $FeCl_3$ 0.01 MOLAR
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS SALICYLIC ACID

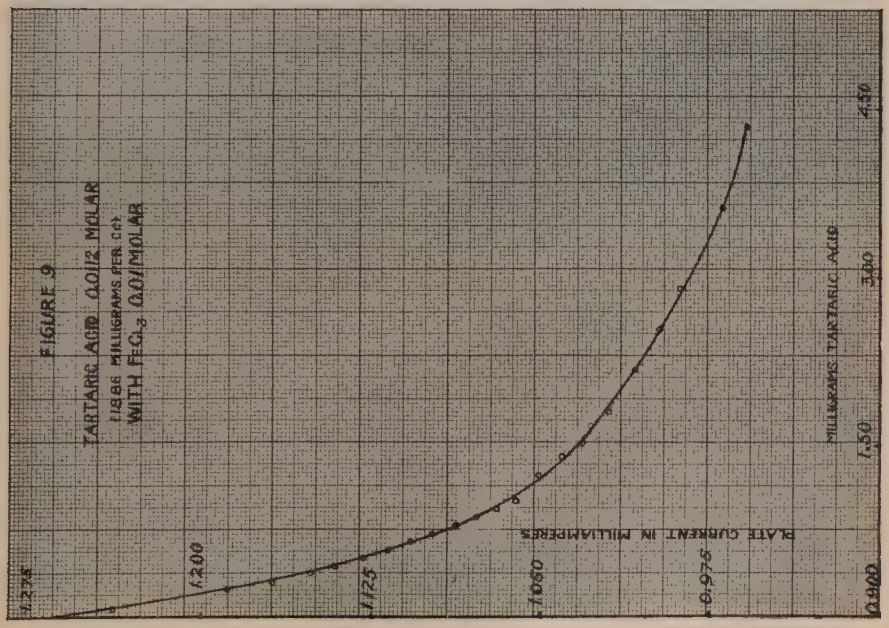


FIGURE 9
TARTARIC ACID 0.012 MOLAR
1.886 MILLIGRAMS PER C.C.
WITH $FeCl_3$ 0.01 MOLAR
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS TARTARIC ACID

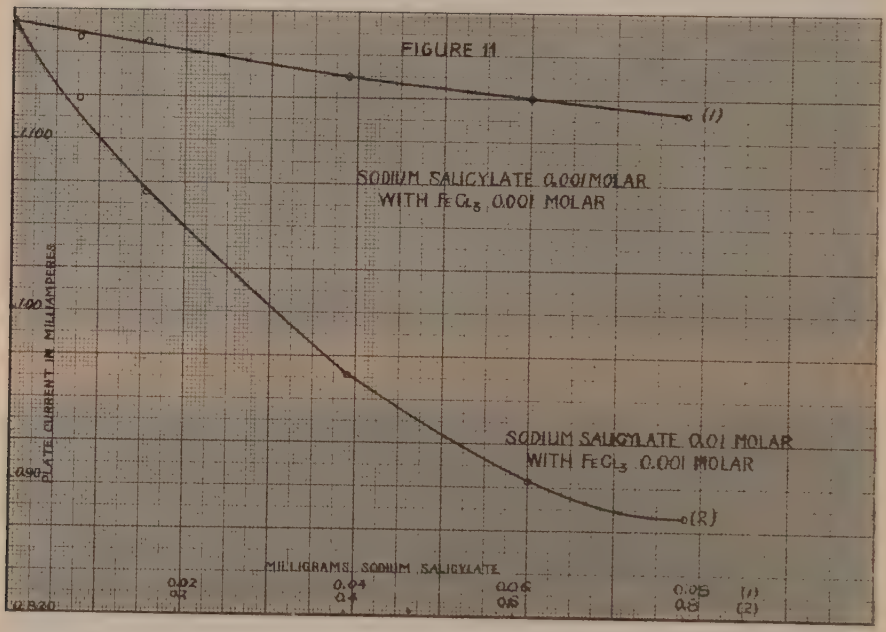


FIGURE 11
SODIUM SALICYLATE 0.001 MOLAR
WITH $FeCl_3$ 0.001 MOLAR
(1)
SODIUM SALICYLATE 0.01 MOLAR
WITH $FeCl_3$ 0.001 MOLAR
(2)
PLATE CURRENT IN MILLIAMPERES
MILLIGRAMS SODIUM SALICYLATE
0.02
0.04
0.06
0.05
(1)
(2)

Sur un procédé microchimique pour le dosage du glucose dans les solutions sucrées et dans l'urine.

Ch. Cimerman et **P. Wenger.**

Laboratoire de Chimie Analytique Université de Genève.

(Eingelangt am 5. März 1931.)

Inspirés d'une part par les méthodes nouvelles de la Microchimie et désirant d'autre part éviter les difficultés inhérentes au dosage du glucose par la méthode classique, connue sous le nom de méthode de FEHLING, nous avons cherché une modification susceptible de raccourcir le temps d'expérience, sans pour cela diminuer la précision des résultats.

Nos essais nous ont permis d'arriver à des résultats satisfaisants, aussi croyons-nous utile d'exposer ici notre procédé.

Le mode opératoire du procédé classique présente les inconvénients suivants:

1. L'oxydule de cuivre qui se forme dans la réaction étant très fin, passe souvent à travers les filtres et à travers la pâte de papier, ce qui fournit une réaction positive avec le ferrocyanure de potassium même lorsque la réaction est achevée.

2. Si l'on ne filtre pas suffisamment rapidement, l'oxydule de cuivre, se réoxyde et passe dans la solution.

3. Le procédé, pour être exact, nécessite 4 ou 5 prises successives puisque l'on opère, en somme, par tâtonnement et que l'on doit chaque fois filtrer.

4. Il est difficile de doser avec précision des liquers sucrées diluées, en utilisant des réactifs qui sont relativement concentrés.

5. Dans le cas du dosage du sucre dans l'urine, il arrive fré-

quemment que le précipité se dépose mal et il faut attendre longtemps pour se rendre compte de la couleur du liquide surnageant.

Il s'agissait donc tout d'abord de supprimer la filtration pour faire disparaitre les inconvénients indiqués sous chiffres 1, 2, 3 et 5. Or, la centrifugation, opération bien souvent employée en micro-analyse, remplace ici très avantageusement, la filtration.

a) Elle permet de séparer très rapidement le précipité de la solution, ce qui évite la réoxydation de l'oxydule de cuivre.

b) Elle rend possible la réaction à la touche.

c) Elle permet de faire les divers essais sur la même prise, puisqu'on ne procéde plus à une filtration.

d) Dans le cas de l'urine, on peut ainsi se rendre compte très vite de la couleur de la solution.

Enfin, pour lever la difficulté indiquée sous chiffre 4, nous employons des solutions de réactifs, dilués au $^1/_{10}$. Le ferrocyanure de potassium, employé dans la méthode classique ne se prêtant pas à la réaction des touches pour le cuivre, nous avons eu l'idée de le remplacer par la teinture de gaïac[1]) qui donne une coloration bleue avec un sel de cuivre en présence de cyanure de potassium. Pour faire toutes les opérations (réaction et centrifugation) dans le même tube, nous travaillons avec de petits volumes que nous mesurons à la microburette qui permet de lire le $^1/_{100}$ de cc.

Principe du procédé.

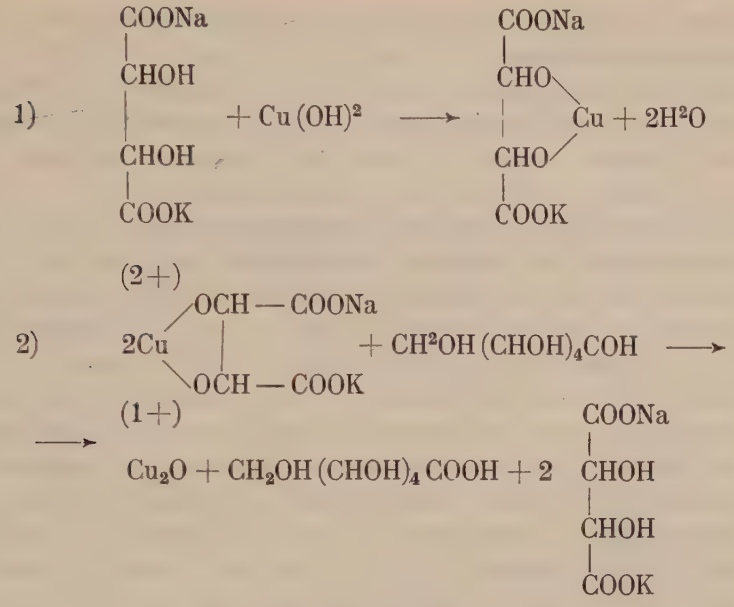
Le principe est celui de la méthode classique de FEHLING qui est basée sur la réduction du cuivre bivalent en cuivre monovalent, en milieu alcalin, par le glucose.

Les substances qui prennent naissance par l'oxydation du glucose sont nombreuses[2]), ce qui explique d'ailleurs que la réaction ne suit pas les régles stoéchiométriques.

Pour mettre en évidence la réduction du cuivre, nous donnons l'équation qui se rapporte à la formation de l'acide gluconique, dans cette réaction, à partir du glucose.

[1]) H. et R. IMBERT et PILGRAIN, Bull. Soc. Chim., **35**, 60 (1924); Journ. Pharm., **30**, 285 (1924).

[2]) M. E. CATTELAIN, Journ. Pharm., **10**, 451 (1929).



Réactifs nécessaires.

1. Solution de sulfate de cuivre contenant 34,65 gr. de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ dans 500 cc.

2. Solution de sulfate de cuivre contenant 3,465 gr. de $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ dans 500 cc.

3. Solution de Sel de Seignette contenant 175 gr. de tartrate sodico potassique avec 50 gr. de soude caustique dans 500 cc.

4. Solution de Sel de Seignette contenant 17,5 gr. de tartrate sodico potassique avec 5 gr. de soude caustique dans 500 cc.

5. Solution alcoolique de gaïac à 0,5% environ.

6. Solution de cyanure de potassium à 0,5% environ.

Mode Opératoire.

A. Essai préliminaire : On détermine tout d'abord par un essai préliminaire la teneuer approximative de la solution en glucose. Les opérations sont identiques à celles que nous allons décrire pour l'essai définitif. Ce mode de faire a pour but de fixer le pourcentage approximatif de la liqueur. Si la teneur est inférieure à $10^0/_{00}$ on ramène par dilution, à $1^0/_{00}$ environ, si elle est

supérieure à $10‰$ on ramène, par dilution, à ce titre pour effectuer l'analyse définitive.

Remarque: Lorsqu'il s'agit d'urine, nous employons, pour défecquer, le réactif de Courtonne et le carbonate de potassium pour éliminer l'excès de Plomb de la solution, qui peut réagir avec le gaïac.

B. Essai définitif: On introduit dans un tube à essais d'une capacité de 40 cc. et d'un diamètre extérieur de 30 millimètres, 2 cc. de la solution de sulfate de cuivre et 2 cc. de la solution de sel de Seignette; dans le cas d'une concentration à $1‰$ on utilise les réactifs dilués au $^1/_{10}$ (solutions 2 et 4) et dans le cas d'une concentration à $10‰$, on emploie les solutions concentrées (1 et 3). On porte à ébullition et on ajoute la solution qui contient le glucose jusqu'à décoloration apparente: On centrifuge une à deux minutes, avec une vitesse de 2000 à 2500 tours/minute, le précipité se sépare complétement et la liqueur est claire. On procède alors à la réaction au gaïac: on porte une goutte de la solution sur un papier-filtre, on touche avec une goutte de la solution de gaïac, puis avec une goutte de la solution de cyanure de potassium, une coloration bleue indique la présence du cuivre dans la solution, prouvant ainsi que la réaction n'est pas terminée. On rejoute alors une nouvelle quantité de solution sucrée, un peu d'eau distillée pour maintenir le volume constant, on porte à l'ébullition, pendant quelques minutes, on centrifuge et on répète la touche au gaïac jusqu'à ce que l'on n'obtienne plus de coloration. Il suffit alors de calculer la teneur par le nombre de centimètres cubes de la solution sucrée utilisée. Le prélèvement de 2 ou 3 gouttes de la solution pour les touches à la fin de la réaction, ne fausse pratiquement pas le résultat.

On détermine, au préalable, le titre de la liqueur de Fehling par le même procédé: pour les solutions 1 + 3, au moyen d'une solution titrée de glucose, à $10‰$ et pour les solutions 2 + 4 au moyen d'une solution titrée de glucose à $1‰$.

Remarques: 1. Bien qu'on opère en milieu alcalin, la teinte jaune, due à l'alcali, n'est pas gênante pour la touche, vu la grande sensibilité de la réaction avec le cuivre. Il faut seulement éviter, soit un excès de teinture de gaïac, soit un excès de cyanure de potassium.

2. Il est bon d'éliminer de la solution les corps qui peuvent réagir colorimètriquement, soit avec le cyanure de potassium (Hg^{+}, Ni^{++}, Co^{++}, Mn^{++}, Fe^{++}, Fe^{+++}) soit avec la teinture de gaïac (Pb^{++}, Fe^{+++}).

Résultats de quelques analyses:

		Résultats obtenus par la méthode classique	Résultats obtenus par notre procédé
Solution de glucose à 1%	1.	1%	0,99%
	2.	1%	1,00%
Solution de glucose à 0,1%	1.	—	0,096%
	2.	—	0,097%
Urines sucrées	1.	15,49‰	15,40‰
	2.	14,60‰	14,68‰

Conclusion:

La modification apportée par notre procédé permet donc de supprimer la filtration, de rendre l'analyse plus rapide, de réduire la quantité des réactifs uitilisés, de travailler avec de faibles volumes de solutions sucrées, de déterminer le pourcentage du sucre dans des solutions diluées de l'ordre de 1 à 10‰ et tout cela, sans diminuer la précision des résultats. Nous estimons donc que le procédé proposé peut rendre de grands services dans la pratique analytique. Il peut être généralisé à d'autres sucres, réduisant la liqueur de FEHLING.

Contribution to the Micro-Dumas Method.

By **Otto R. Trautz.**

New York University, New York, N. Y.

(Eingelangt am 10. November 1930.)

In a previous paper[1]) some difficulties encountered in theperformance of the Micro-Dumas method[2]) have been mentioned. When certain conditions are observed, good checks are obtained, but they exhibit greater or smaller methodical deviations from the theoretical values[3]), [4]).

Occasionally they are improved by shortening or lengthening the time of the sweeping-out process at the end of the analysis, and identical experimental conditions must obtain in every analysis in order to get coinciding results. On the other hand the results obtained by the usual method and calculation are impaired, when certain errors, which occur and can be measured by blank experiments, are corrected (e. g. air error and adsorption error, see below).

As the results were repeatable, it was likely that by a more rigid examination of the experimental basis of some phases of the method the sources of the methodical deviations could be found and removed, thus increasing the dependability of the results.

Possible Dissociations in the heated Combustion Tube.

The charge of the combustion tube and the possible existence or nonexistence of equilibria between the various phases in the heated tube have been discussed in several papers[4]), [5]). The possible dissociation of CO_2 and CuO with the consequent formation of CO and O_2, neither of which is absorbed in KOH solution, would

cause an enlargement of the micro-bubbles on heating the filled tube and a certain amount of residual gas.

Under the experimental conditions[6]) described below (see „Combustion tube"), an enlargement of the micro-bubbles was no longer observed after the air adsorbed on the CuO filling had been expelled, not even on heating the tube intensely. The CO_2 used was very pure (1 mm^3 impurity in 100 cc. CO_2) and yielded exceedingly small micro-bubbles (less than $^1/_{10}$ mm diam.), the enlargement of which already would have indicated a slight formation of CO or O_2 (1—2 mm^3). This was experienced in a great many experiments and measurements, counting the micro-bubbles and measuring the volume collected. The very absence of a dissociation error could be proved definitely only when CO_2 of so high a degree of purity was employed.

In this paper, therefore, such an error is not further taken into consideration.

Only two experiences may be added: Sometimes when (MERCK's) CuO powdered and CuO wire was used, an enlargement of the micro-bubbles was observed upon heating the tube; but only when the CuO which was placed at the end of the tube had its surface dusted with powdered CuO from previous experiments. No enlargement was observed when fresh CuO was employed at the end portion of the tube, even when previously used CuO was in its middle.

It has been proved that no CO formed in the middle of the tube can pass the hot CuO without being oxidized, even when the CO_2 passes through the tube at a rate up to 22 cc/min, (i. e. 7 bubbles/sec.). In this respect, CuO wire 0,5 mm in diameter (BAKER's) is preferable to CuO wire 0,9 mm in diameter (MERCK's) since the spaces between the wires are smaller and the CuO surface is increased twice thus insuring a lengthier contact between the gases and the CuO.

Carbon Dioxide Generator; Air Error; Gasometer.

The experiments carried out in part with the combustion tube removed, indicated that the micro-bubbles consist of gases which are already admixed with the CO_2 in the Kipp generator, originat-

ing principally from the air dissolved in the generator acid.

The air having access to the upper bulb dissolves in the acid and diffuses through it into the middle bulb and must be removed from there by flushing the middle bulb. But the CO_2 produced after this operation still contains an amount of air which causes an error (air error) greater than the probable error in measuring the gas volume (1 mm^3).

If the solubility of air in HCl (1 : 1) is assumed to be 1,1 percent by volume at 20° C (estimated from data in LANDOLT-BÖRNSTEIN, Tabellen, pg. 770) then 100 cc CO_2 evolved by 1,7 cc HCl (which is in contact with air) can contain up to 20 mm^3 air. This agrees with the degree of purity observed in the experiments. By dropping pieces of marble into the upper bulb some air is removed from the acid, but to an indefinite amount and by further contact with air it will take on air again.

No appreciable amount of air originates from 0,4 g marble which is the amount required to produce 100 cc CO_2.

In the sweeping out process at the end of the analysis 40—50 cc CO_2 are required, leaving about 1000 micro-bubbles in the azotometer. If their diameters are 0,2 mm, which has been accepted as unobjectionable, then an air error of 4 mm^3 is introduced, which has not been taken into account.

For the dependable performance of an analysis it is necessary that the air content of the CO_2 remains constant (between the analyses and the corresponding blanks) within 1 mm^3 per analysis; and it is highly convenient if the air content is so small, that it is unnecessary to take it into consideration. Besides this, the size of the very small micro-bubbles ($^1/_{10}$ mm diam.) makes it easier to estimate the degree of purity of the CO_2 and the end of the sweeping out process during the final stage of the analysis (as below), than if the bubbles are larger ($^2/_{10}$ mm diam.).

The usual arrangement of the Kipp, the acid of which has contact with the air, does not insure a constant degree of purity of the CO_2 produced.

If the upper bulb of the Kipp, is connected with the middle bulb of a second Kipp[7]), [1]) and the gas over the acid of the first displaced from time to time by fresh CO_2 from the second generator, then the degree of purity of the CO_2 produced (2—6 mm^3

per 100 cc CO_2 are not absorbed in KOH) remains fairly constant for a longer period of time.

To produce still purer CO_2 the generator must be evacuated. This may be accomplished by fitting the upper bulb with a mercury valve which will keep out the air and act as a safety valve. HEIN[8]) describes a valve with a fritted glass plate covered with mercury. As excess pressure should exist within the upper bulb at all times, a U-tube charged with mercury[6]) was found convenient, because it allows the pressure (and partial vacuum) to be read at all times and not only at the moment of escape of CO_2 bubbles.

A column of mercury, 5 cm high in one arm of the U-tube is sufficient to counteract the usual pressure variations in the upper bulb, due to variations in room temperature and atmospheric pressure. Before an analysis and at other times, when necessary, CO_2 is passed from the middle bulb through a stopcock and connecting tube to the upper bulb until CO_2 escapes through the valve.

The acid may be renewed in a simple manner without access of air as previously described[1]).

Since the oft-repeated flushing of the Kipp generator (2—5 times before starting an analysis[3]) required by the original arrangement without exclusion of air from the upper bulb, is no longer necessary when employing either of the above methods, one charge of the generator will last for a considerably longer period of time than formerly.

While the new construction of the apparatus is slightly more complicated, its manipulation is simpler and more time saving and, what is essential, the degree of purity of the CO_2 remains sufficiently constant. This is particularly true of the second arrangement in which the generator is evacuated. Under these conditions it is easily possible to obtain CO_2 containing as little as 1 mm^3 or even less of nonabsorbable gas in 100 cc, and thus render the air error smaller than the error in the azotometer reading.

If the air error is greater than 4 mm^3, a gasometer should be inserted between the generator and combustion tube in order to measure off standard amounts of CO_2 for the analyses as well as the determination of the air error. The amount of CO_2 neces-

sary can be measured more conveniently by the use of the gasometer than by adjusting a certain bubble frequency for a certain length of time, as done heretofore. And furthermore with CO_2 leaving micro-bubbles larger than 0,1 mm, the end of the sweeping-out, after the combustion has been completed, is determined more accurately by having a certain amount (e. g. 40 or 50 cc) of CO_2 pass the tube, than by an estimation based on the size of the micro-bubbles.

Combustion Tube; Adsorption Error.

In the experiments described in this paper the tube was charged with BAKER's C. P. CuO wire. It as well as MERCK's CuO Drahtform, specially prepared for PREGL's micro-analysis, has been found to yield excellent results. As previously mentioned, no enlargement of the micro-bubbles were observed even on intensive heating.

The fine CuO was prepared by grinding BAKER's C. P. CuO wire and passing it through a 10/cm mesh sieve. The fresh CuO as well as that used previously was ignited for half an hour and allowed to cool in the air a day or more before the combustion tube was charged.

The permanent charge consisted of 10 cm CuO wire and 5 cm Cu wire (obtained from CuO wire by reduction). The temporary charge, consisted of 9 cm CuO wire and 2 cm fine CuO (containing the sample) and 4 cm CuO wire. The CuO filling at the narrow end of the tube projected 3 cm over the burner.

If the permanent charge is allowed to cool in CO_2 and to stand under CO_2 pressure until the next analysis, the air which will enter during the changing of the temporary charge can be quantitatively swept out by CO_2 in the cold. On the other hand the temporary charge brings in an amount of air which cannot be disregarded and which cannot be swept out in the cold in a short time. Thus the problem arises to determine the amount of air which is liberated only on heating and which is collected in the azotometer (adsorption error) and to so choose the method of preparation of the material and of carrying out the analysis, that this amount of air remains the same from analysis to analysis.

A day after ignition the CuO has adsorbed the full amount of air, which does not vary afterwards.

To ignite and keep the CuO in an atmosphere of CO_2 until its use is too bothersome and in cases of undiscovered leaks less reliable, although the adsorption error is smaller. The same is true of the removal of the adsorbed air by evacuating the tube[9]).

In the usual method the tube is heated during the initial sweeping-out and some of the air (adsorbed to the CuO and only freed on heating) is more or less removed depending on the degree and length of heating. The following procedure assures a better constancy of the adsorption error and is therefore preferable:

After the tube has been swept with one gasometer charge (150 cc) in the cold (this operation should take 5 minutes) and micro-bubbles obtained, all of the air which is liberated from the CuO only on heating is collected in the azotometer together with the N_2 liberated by the substance. At the same time the danger of eventual loss in the analysis of a relatively volatile substance during prolonged sweeping out is reduced to a minimum.

In following the course of analysis here described (using BAKER's CuO for charging the tube of 8 mm inside diam.) the adsorption error has been determined as 6 mm^3 in more than 20 experiments at different times; (when the CuO is kept in an atmosphere of CO_2, 1—4 mm^3).

If the combustion tube was charged with MERCK's CuO Draht and CuO pulv. without any other changes in the procedure, the adsorption error likewise was found to be 6 mm^3. Thereby the increase (2 mm^3) in adsorption on the powdered CuO is compensated by a decrease due to the smaller surface of MERCK's CuO wire.

The eventual loss of substance, mentioned above, can easily be detected and corrected, if a second analysis, in which four times the amount of CO_2 is used for sweeping out prior to the combustion, yields a lower N content; a third of the difference is added to the result of the first analysis, it about the same amount of substance was used.

Azotometer.
Potassium Hydroxide Solution.

The treatment of the KOH solution (1 : 1) with $Ba(OH)_2$, according to PREGL) and subsequent filtration through Jena glass filter eliminated the foaming of the KOH completely.

The troublesome adherence of the bubbles to the Hg-KOH interface is overcome by the addition of a few drops of mercury which has been previously shaken with ether. In this shaking process a dark sludge is formed. The ether is removed with filter paper, the mercury and sludge washed with water and KOH, both are introduced into the azotometer through the levelling bulb. The sludge is the essential part of the mixture and may also be prepared in advance and kept on hand to be used when the need occurs.

Wall Error.

When gas is collected in the azotometer, some of the KOH solution remains adhering to the wall, due to its viscosity, and flows down slowly and incompletely and thereby reduces the volume of the capillary (wall error). As a result, the volume of the nitrogen collected gives too high a reading. In the usual method this is taken into account by applying a correction of 1,7% of the nitrogen volume. The results of our experiments show a wall error amounting to only 0,5% of the N_2 volume:

The azotometer was cleaned with cleaning mixture and KOH, washed with destilled water and dried by a current of air, then the air displaced by KOH from below up to the 1 cc mark: The bore of the stopcock was filled with KOH from above, the levelling bulb hung at the level of the meniscus, and after 10 min. the volume was read. By inclining the azotometer about 100 degrees and by tapping it with the finger, the KOH was brought to the upper part of the measuring capillary, so that the entire wall was wet, but without having allowed the bubble of air to escape from the capillary portion of the azotometer. The bubble was brought back to the point of the capillary of the now upright azotometer by tapping. After 20—30 min. the volume was read. In each of the three experiments carried out the reading increased by 5 mm^3, which denotes a wall error of 0,5%. Naturally all temperature and pressure changes were taken into consideration.

A fourth experiment was carried out with particular care in so far as a dried bubble was employed. For if the moisture content of the air was not reduced to the vapor pressure of the KOH solution within the ten minutes preceding the first reading, a subsequent absorption of moisture between the first and second readings would simulate a wall error of too small a magnitude.

After cleaning and drying the azotometer, it was filled with KOH up to the lower end of the capillary and a gasometerful of CO_2 with an air content of 20% was led through, whereby the moisture in the small bubbles was reduced to the vapor pressure of the KOH. The KOH was then raised to the 1 cc mark and the experiment completed as described above. This time the increase in the reading was likewise only 5 mm^3.

Within the following 12 hours the wall error decreased still more. It was repeatedly found that the following day the observed volume was 2—4 mm^3 less (despite careful consideration of temperature and pressure changes), even when the azotometer was placed in a constant temperature air bath (20,0 ± 0,1° C).

A gravimetric determination of the wall error yielded the same result: The capillary pipettes of Pyrex glass (fig. 2), having the same diameter as the measuring capillary of the azotometer, were filled to the mark with mercury from a test tube, once when the pipettes were clean and dry and a second time when the pipettes were wet with KOH solution. The amounts of mercury filled into the pipettes were determined by weighing out the test tube before and after filling the pipettes. The dry pipettes contained (at 29° C) 12,7960 g and 3,8621 g of Hg respectively.

The pipettes were wet up to the mark with KOH solution (such as is used for charging the azotometer), which after one minute was withdrawn again, first by means of the suction pump, but the last drops from the tip by means of filter paper in order to avoid that liquid adhering to the wall is removed forcefully. Then the pipettes were hung in a vertical position, and after 10 minutes the drops which collected in the tips were removed. (During the following 15 minutes no further appreciable amount of liquid accumulated.) Mercury was introduced again so that the meniscus of the small drop of KOH which has been collected from the wall on top of the mercury reached the mark. The amounts of mercury

used for filling the wet pipettes were 0,0534 and 0,0584 g less for the larger and 0,0207 g less for the smaller pipette than those used for the pipettes when dry. This corresponds to a wall error of 0,4% and 0,5% of the volume of gas to be measured.

In conclusion, a correction of — 0,5% of the N_2 volume would best correct the wall error under the described experimental conditions, the volume being read about 15 minutes after completion of the analysis.

As the temperature correction for the barometer between 0 and 18° or 0 and 24° C, 0,3% or 0,4% respectively (that is 2,2 or 3,0 mm per 760 mm Hg) are deducted from the barometer reading, or more conveniently from the volume of N_2.

For the vapor pressure over the KOH solution a correction of — 0,3% of the N_2 volume is applied.

Absorption of Nitrogen in the KOH Solution.

Besides the low vapor pressure the strong KOH solution (1 : 1) possesses further the very convenient property of having a low capacity and velocity of absorption of N_2. It prevents the N_2 which is collected in the azotometer from being absorbed in the KOH to any marked degree as well as preventing the CO_2 bubbles from taking up some of the air dissolved in the KOH and leaving it in the form of micro-bubbles. This is particularly important in measuring small amounts of nitrogen.

That the latter phenomenon does not cause an error in carrying out the Micro-Dumas method is apparent from the facts, that it is possible to have 100 cc CO_2 absorbed in the KOH leaving an unabsorbed residue of less than 1 mm^3. Complete absorption of the CO_2 without leaving micro-bubbles was not observed with this experimental arrangement.

On the other hand the micro-bubbles were reabsorbed in ether (within a few seconds) and in water and dilute KOH (within 4 minutes) if the liquids had been previously freed from air by shaking them under reduced pressure. Otherwise the bubbles increased in size. For these experiments an azotometer was used the measuring capillary of which was replaced by a 1 m long glass tube in which the liquids mentioned were stratified above the KOH (1 : 1) in the wide part of the azotometer.

In order to determine the solubility of air in KOH solutions, 25 cc of the solutions were shaken with air and (after all air bubbles had risen to the top and disappeared) were placed in a Van Slyke apparatus, such as is used in the determination of blood gases, and there subjected to reduced pressure. By this treatment 35 cc (the capacity of the azotometer) liberated-

from KOH (1 : 1) only 10 mm^3 gas
KOH (1 : 3) as much as 65 mm^3
KOH (1 : 9) 250 mm^3. The amount found
for Water: 730 mm^3 at 16° C agrees with the solubility data in the Landolt-Börnstein Tabellen (pg. 766, Bunsen absorption coefficient 0,020 at 16° C; vapor pressure 13,5 mm Hg).

The results therefore support the conclusion that the amount of N_2 collected in the azotometer is not affected by the KOH solution and that it may be possible to devise a method for the determination of nitrogen in smaller samples (weighing less than 3 mg) with the same accuracy (NIEDERL).

Rubber Connections.

New rubber connections, as is known, give off noticeable amounts of gases to CO_2 passing through them, also rubber tubing which has been in use for some time does not completely exclude the air.

While CO_2 diffuses outwards, diffusion (to a slight extent) of the air gases from the outside towards the inside, where their partial pressure is practically zero, takes place against a CO_2 excess pressure; e. g. it was found that 1 mm^3 air per hour diffuses through the wall of a piece of rubber tubing: 7 mm long, 3 mm inside diameter, 1 mm wall thickness (black, best dense quality, already in use for weeks).

The enlargement of the micro-bubbles show that the rubber connections of the Micro-Dumas apparatus permit noticeable amounts of air to seep into the system, but, provided the rubber connections are perfect, the amounts entering during an analysis are negligible.

To be completely independent of these sources of error, the ex-

periments in this work were carried out with an apparatus, the parts of which were connected by means of ground glass joints.

Blank Analysis.

The purpose of the blank analysis is to determine the magnitude of the air and adsorption error by combustion of a substance containing no nitrogen. An adsorption error always occurs, it has a definite magnitude depending upon the nature of the charge in each case and must be considered in calculating the results of analysis.

The blank analysis is carried out in the same manner as the analysis of the substance itself. The sum of the air and adsorption errors is first obtained. Subsequently an equal amount of CO_2 may be passed through the (heated) tube and the air error alone determined.

In order to bring the reading within the range of the measuring scale a small air bubble (0,05 — 0,1 cc) is introduced into the capillary. In case of a large bubble (1 cc) the determination of the difference becomes more inaccurate, due to possible temperature and pressure changes.

Since the impurities of the CO_2 consist partly of O_2, the combustion tube is heated during the determination of the air error as well as during the sweeping out process after the combustion of the substance. Thereby the O_2 is absorbed by the hot Cu.

Calculations:

To the volume read the calibration correction which is supplied with every azotometer is applied. From this value is subtracted:

1. the air plus adsorption error. (In following the course of analysis described above, 6 mm^3 originate in the temporary charge, 0—6 mm^3 in the CO_2, depending on the purity.)

2. 1% (exactly 1,1 or 1,2%) of the volume of the collected gas. (That are 0,5% for the wall error, 0,3% for the partial pressure of the KOH solution, and 0,3 (0,4) % for the reduction of the barometer reading obtained at 18° (24°) C on glass or brass scale.)

From the resulting volume the percentage of N in the sample is calculated in the usual way.

Example:

Volume read . .	0.293 cc
Calibr. corr. . .	0.292
Air + adsorpt. .	0.006
1%	0.003
	0.283 cc

3.180 mg Acetanilide

Percentage found:	10.33
Percentage theoret.	10.37

Results:

Most of the results are a few hundredths % (less than 0,1%) lower than the theoretical values. But the values which were calculated with a correction for the wall error of — 1,7% of the N_2 volume collected (as done heretofore), average an N content 0,20% too low.

This difference, in my opinion, has been more or less completely compensated in the usual way of calculation by omitting a correction for adsorption and air error, and the rate of the CO_2 had to be accurately adjusted to 1 bubble in 2 seconds (or 2 bubbles in 3 seconds resp.) while at a higher rate too high results have been obtained.

The analyses carried out (with BAKER's material) at a rate of 4 bubbles per second during the combustion and sweeping-out process (so that for both together not more than a quarter of an hour was required) yielded results which showed no systematic difference as compared with the results of the analyses which were carried out slowly (1 bubble/sec.).

Summary.

Some phases of the Micro-Dumas method have been studied, and the magnitude of several errors encountered determined.

The amount of air adsorbed to the CuO charge of the tube and often the air content of the CO_2 used should be corrected in more accurate measurements. A new determination of the volume reduction of the azotometer capillary by the KOH solution yielded smaller corrections than applied heretofore.

Minor alternations in the course of analysis and the method of calculating the results are therefore advised.

Thanks are due to Dr. C. F. Hinck and Dr. J. B. Niederl for the loan of apparatus and for helpful suggestions.

Literature cited.

[1]) J. Niederl, O. Trautz, W. Sascheck: Mikrochemie, Emich-Festschrift, 1930.

[2]) F. Pregl: Die quantitative organische Mikroanalyse; Springer-Berlin. 3rd edition 1930. Engl. translation of 2nd edition by Fyleman; Blastikon-Philadelphia, 1924.

[3]) B. Flaschenträger: Ztschr. angew. Chem., **39**, 717, 1926.

[4]) F. Boeck & K. Beaucourt: Mikrochemie, **VI**, 69, 1928.

[5]) F. Halla: Mikrochemie, **VII**, 202, 1929.

[6]) O. Trautz & J. Niederl: Ind. Eng. Chem. (Analyt. Edition), 1931.

[7]) Schoeller: Ztschr. angew. Chem., **34**, 586, 1921.

[8]) F. Hein: Ztschr. angew. Chem., **40**, 864, 1927.

[9]) Shintaro Ogawa: Sc. Rep. Tohuku Imp. Univ., **16**, 667.

Über eine Reaktion zum mikrochemischen Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd und von Vanillin.

Von **C. Griebel.**

Mitteilung aus der preußischen Landesanstalt für Lebensmittel-, Arzneimittel- und gerichtliche Chemie in Berlin.

(Eingelangt am 28. November 1930.)

Zum mikrochemischen Nachweis von Wasserstoffsuperoxyd benutzt man in der Regel dessen Verhalten gegen angesäuerte Jodkaliumlösung. Bei Gegenwart von Wasserstoffsuperoxyd wird aus einer solchen Lösung Jod in Freiheit gesetzt, das sich nach Zugabe von etwas Stärke durch Bildung blauer Jodstärke in außerordentlich geringen Mengen erkennen läßt.

Das Eintreten dieser Reaktion bietet jedoch noch keine Gewähr dafür, daß die Bildung von Jodstärke wirklich auf das Vorhandensein von Wasserstoffsuperoxyd zurückzuführen ist, weil auch Hypochlorit, Perchlorat, Nitrit, Chloramin und andere Oxydationsmittel aus saurer Jodkaliumlösung Jod frei machen.

Eine nur mit Wasserstoffsuperoxyd und Verbindungen, die solches abspalten, eintretende Reaktion dürfte daher von Interesse sein.

Ich fand die Reaktion vor einer Reihe von Jahren zufällig, als ich Vanillinsalzsäure auf mikroskopische Präparate, die vorübergehend mit Wasserstoffsuperoxyd behandelt worden waren, einwirken ließ. Nach einiger Zeit erfolgte nämlich in den Präparaten eine Abscheidung von prächtig stahlblauen bis schwarzblauen, zum Teil ästig verzweigten Kristallaggregaten.

Da die Vanillinsalzsäure unter Zusatz von etwas Alkohol bereitet war, mußte zunächst geprüft werden, ob der Alkohol an

der Reaktion beteiligt war. Deshalb wurde eine einprozentige Vanillinsalzsäure hergestellt, in der der Äthylalkohol durch Methylalkohol oder Azeton ersetzt war. Es trat jedoch stets die gleiche Reaktion ein, auch wenn das Vanillin ohne Zusatz eines organischen Lösungsmittels unmittelbar in der Salzsäure unter Erwärmen gelöst wurde. Mithin lag eine Reaktion zwischen Wasserstoffsuperoxyd und Vanillinsalzsäure vor.

Ebenso wie mit freiem Wasserstoffsuperoxyd wurde die Reaktion auch mit Natriumperborat und Magnesiumsuperoxyd erhalten,

dagegen nicht mit Hypochlorit, Perchlorat, Nitrit und Chloramin. Sie ist also charakteristisch für Wasserstoffsuperoxyd.

Zur Prüfung auf Wasserstoffsuperoxyd verfährt man folgendermaßen. Ein Tropfen der zu untersuchenden Flüssigkeit, beziehungsweise einige Körnchen der Substanz werden auf einem mit Hohlschliff versehenen Objektträger mit einem Tropfen einer einprozentigen Vanillinsalzsäure (0,1 g Vanillin in 10 g 25%iger Salzsäure unter Erwärmen gelöst) versetzt. Bei Gegenwart etwas größerer Mengen Wasserstoffsuperoxyd tritt nach 5 bis 10 Minuten eine rötlichbräunliche Färbung der Flüssigkeit ein. Beim allmählichen freiwilligen Verdunsten der Flüssigkeit erfolgt dann

Abscheidung von schwarzvioletten bis schwarzblauen, haarfeinen Nadeln, die zu schön verzweigten Gebilden vereinigt sind. Besonders schön fallen diese Kristallbildungen aus, wenn man Alkohol enthaltende Vanillinsalzsäure (0,1 g Vanillin, 1 ccm Alkohol, 9 ccm 25%ige Salzsäure) verwendet (vergl die Abb.). Zuweilen bilden sich auch dichtere Kristallaggregate, die dann schwarz erscheinen.

Die geringste Menge Wasserstoffsuperoxyd, die sich auf diese Weise in einem kleinen Tropfen (0,02 ccm) wässeriger Flüssigkeit nachweisen läßt, beträgt etwa 25 γ. Bei halb so großen Mengen fallen die Reaktionen bald positiv, bald negativ aus.

Die Empfindlichkeit dieser Probe bleibt damit allerdings hinter der Jodstärkeprobe erheblich zurück, dafür ist die neue Reaktion aber spezifisch für Wasserstoffsuperoxyd und solches abspaltende Verbindungen. Inwieweit andere Beimengungen die Reaktion stören oder verhindern, ist bis jetzt nicht näher geprüft worden. Auch die Ermittlung der Zusammensetzung des Reaktionsprodukts steht noch aus. Bemerkt sei nur, daß der Körper schwer in heißem Wasser mit rötlichgelber Farbe löslich ist. Alkohol löst ihn beim Erwärmen mit violetter Farbe. In Äther und Chloroform ist er praktisch unlöslich. Sein Schmelzpunkt liegt bei etwa 200°.

Die Reaktion läßt sich auch zur mikrochemischen Identifizierung geringer Mengen Vanillin verwenden. Man löst dann die zu prüfende Substanz auf einem hohlgeschliffenen Objektträger in einer Spur Alkohol, gibt ein Tröpfchen Wasserstoffsuperoxyd und und einen kleinen Tropfen 25%ige Salzsäure hinzu und läßt freiwillig eintrocknen. Die Grenze der Nachweisbarkeit von Vanillin liegt hier ebenfalls bei etwa 25 γ.

Diagnose des „Véronalides“ à l'aide de la microcristalloscopie.

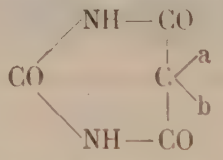
Par **Georges Denigès.**

Professeur honoraire à la Faculté de Médècine de l'Université de Bordeaux.

(Eingelangt am 12. März 1931.)

La difficulté que présente l'identification de faibles quantités de ces dérivés de la malonylurée (acide barbiturique), si largement employés aujourd'hui dans les troubles du système nerveux central, sous les appellations de „barbituriques“, pour rappeler leur noyau d'origine, ou encore de „véronalides“, du nom du plus connu d'entre eux, le véronal, introduit pour la première fois en thérapeutique (1903—1905) par FISCHER et MERING, nous a incité à recherche si la microcristalloscopie ne pouvait apporter une solution au délicat problème de leur diagnose.

Or, dans ces composés qui répondent au schéma général



(a et b étant des radicaux substitués aux 2 atomes d'hydrogène du groupe CH^2 de la malonylurée) le voisinage de groupes négatifs, CO, imprime à l'atome d'hydrogène des groupes NH, avec eux en contiguité, une labilité d'ionisation de l'ordre de celle que cet ion possède dans les acides proprement dits.

C'est pour cette raison que les véronalides fournissent des combinaisons salines avec les alcalis et l'ammoniaque et que ces combinaisons étant solubles, leurs produits générateurs se dissolvent très aisément dans les solutions ammoniacales et alcalines. Grâce

à leur grande insolubilité dans l'eau, on peut les régénérer instantanément de leurs solutions salines, en acidulant suffisamment ces dernières.

Or, ils se présentent, dans ces conditions, sous forme de cristaux ou de groupements cristallins nettement différents d'une espèce à l'autre.

C'est cette propriété que nous avons utilisée, dans ce qui va suivre, pour identifier immédiatement et avec la plus grande facilité — à l'aide du microscope — ces diverses substances médicamenteuses pour lesquelles on ne connait pas de réaction à la fois rapide, sensible et vraiment spécifique.

Technique générale. — Quelques parcelles (une fraction de milligramme) du produit à identifier sont rassemblées au centre d'une lame de verre et pulvérisées — si elles ne le sont déjà — avec la pointe d'un agitateur de verre; si le dit produit est sous forme de comprimés, avec la pointe d'un canif, on en râcle une petite quantité qu'on dispose, de la même façon, sur la lame de verre.

Sur le petit amas, ainsi formé, on ajoute une gouttelette d'ammoniaque dans laquelle le produit[1]) se dissout rapidement, après mélange avec une baguette de verre.

On aura soin, dans ce délayage, de ne pas étendre la préparation sur le verre — ou de le faire le moins possible — en lui laissant un diamètre ne dépassant pas 7 à 8 millimètres.

Puis on porte, au centre de la préparation, une gouttelette d'acide sulfurique dilué au dixième, en volume, que — selon les cas précisés plus bas — on laissera diffuser ou on mélangera avec la baguette de verre.

Cela fait, sans recouvrir la préparation d'une lamelle de verre, on l'examine directement, au microscope, à un grossissement d'environ 60 diamètres.

Voici les particularités observées avec les divers barbituriques.

1° Véronal (diéthylmalonylurée; dans le schéma général remplacer a et b par C^2H^5). — Fig. I, à gauche. En laissant

[1]) S il s'agit de comprimés, le liquide final restera toujours un peu louche par suite de la présence des grains d'amidon ayant servi à confectionner ces comprimés et que l'ammoniaque ne dissout pas. La présence d'amidon communique à ces comprimes, délayés dans l'eau, la propriété de bleuir par l'iode.

simplement diffuser l'acide sulfurique dilué dans la solution ammoniacale de véronal, on observe: en périphérie, d'abord des groupements cristallins a rappelant des arêtes de poisson ou des feuilles de fougère, puis des lamelles quadratiques imbriquées ou superposées b dont la présence est typique pour ce barbiturique; au centre, comme des amas cristallins feuillus d'abord confus mais se résolvant — au moins en partie — après quelques minutes, en groupements analogues à b.

En redissolvant les cristaux dans une gouttelette d'ammoniaque et ajoutant, de nouveau, de l'acide sulfurique au dixième, on a, presque d'emblée, des groupements b et b' et aussi des groupements a, très nets, avec des lamelles c, isolées.

Quand l'ammoniaque est en très notable excès, par rapport à la prise d'essai, l'addition d'acide sulfurique ne provoque pas, immédiatement, l'apparition d'un précipité: le véronal, libéré, reste en sursaturation, pendant quelques instants. En frottant légèrement la lame porte-objet, au niveau de la préparation, avec l'extrémité effilée d'une baguette de verre promenée circulairement dans la région mouillée, sans autant que possible étendre le liquide, mais jusqu'à apparition d'un léger précipité, on peut facilement observer les formes précitées, à côté de lamelles losangiques.

2° Sonéryl (éthyl-butylmalonylurée: dans le schéma général remplacer a par C^2H^5 et b par (C^4H^9). Fig. I, à droite. Par simple contact de la goutte sulfurique on observe, d'abord de nombreuse

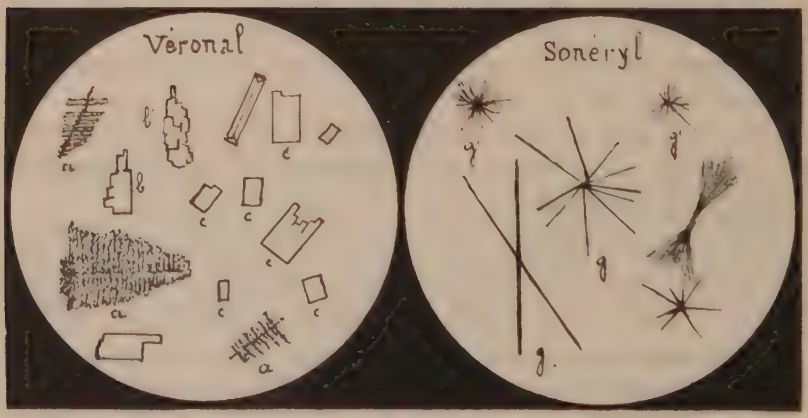


Fig. 1.

et fines granulations sphéroïdes, amorphes, dans le sein desquelles se développent, lentement, de longues aiguilles g, généralement divergeant d'un centre.

Si l'on vient à frotter la préparation, avec l'extrémité d'une baguette de verre, les centres aiguillés se multiplient très vite mais les aiguilles g', qui les forment sont plus courtes que les aiguilles g.

Il est bon, pour bien réussir la préparation, que la gouttelette d'acide sulfurique dilué l'emporte en volume, sur celle d'ammoniaque.

3° Rutonal (Methyl-phénylmalonylurée; dans le schéma général, remplacer a par CH^3 et b par C^6H^5). Fig. II à droite. Par simple

Fig. II.

contact de l'acide sulfurique dilué, avec la solution ammoniacale et en laissant simplement diffuser les deux liquides, l'un dans l'autre, on observe un grand nombre de lamelles hexagonales, rarement isolées mais le plus souvent imbriquées à façon du cholestérol hydraté et même groupées de façon à simuler des feuillages. En général, les cristaux hexagonaux, nettement différenciés apparaissent plus tardivement que les formes groupées.

Si, dès l'addition de la gouttelette d'acide, on promène, dans la préparation, la pointe effilée d'une baguette de verre, en frottant légèrement la lame porte-objet au niveau de la préparation, avec

cette pointe, jusqu'à apparition d'un léger trouble ou précipité, les formes hexagonales isolées dominent et l'on n'observe que de rares groupement analogues à ceux qui viennent d'être indiqués. Parfois apparaissent, en outre, de longues et étroites pyramides à base rectangulaire.

4° Gardénal ou Luminal (Ethyl-phénylmalonylurée: dans le schéma général, remplacer a par C^2H^5 et b par C^6H^5) Fig. II à gauche. Avec ce composé on a, par la première technique, d'abord de fines granulations sphéroïdes, réfringentes, comme pourrait en présenter une émulsion graisseuse diluée, rapidement remplacées par des ilôts de groupements cristallins formés de fines aiguilles, arrondis et légèrement brunâtres, grossissant bientôt et revêtant, le plus souvent l'aspect d'un marron d'Inde.

La seconde technique donne, plutôt, de longs prismes bien isolés ou des groupements peu nombreux d'aiguilles prismatiques.

Il est remarquable de voir la différence très marqué qui existe entre les aspects du rutonal et du gardénal et qui fait qu'aucune confusion n'est possible entre ces deux composés, si proches voisins, cependant, dans la classification chimique. Ainsi, tandis que les réactions ordinaires sont impuissantes à différencier ces deux homologues, c'est avec la plus grande certitude, la plus grande facilité que la micro-cristalloscopie permet d'y arriver.

5° Dial (diallylmalonylurée: dans le schéma général, remplacer a et b par C^3H^5) Fig. III, á gauche. Par simple diffusion

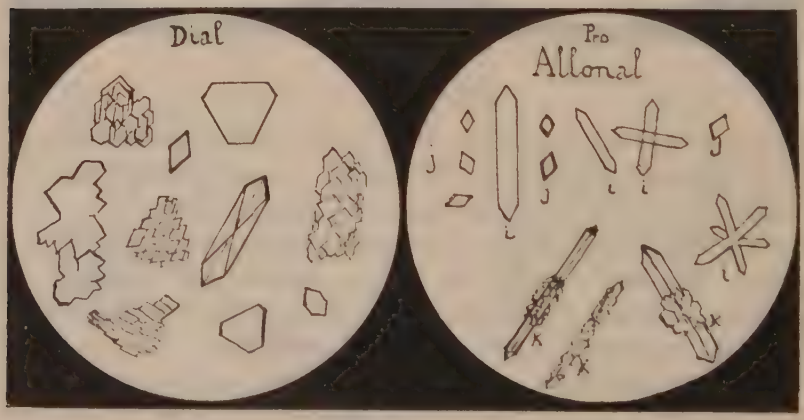


Fig. III.

de la gouttelette hydro-sulfurique, on observe à peu près immédiatement, à la périphérie, de larges lamelles hexagonales, souvent régulières, parfois à 2 côtés prépondérants; quelquefois, des lamelles rhombiques. Au centre, ces lamelles très nombreuses et plus petites donnent d'abord un ensemble confus mais qui — au moins par place — se résout en groupements rappelant ceux du cholestérol hydraté, ainsi qu'on s'en assurera mieux à un grossissement un peu plus fort.

Comme pour le véronal, quand l'ammoniaque est en notable excès (redissolution, par exemple du précipité précédent, sur la lame même, par une goutte de NH^3) et qu'on sursature de nouveau avec l'acide sulfurique dilué, le précipité peut n'apparaître qu'après friction. Dans ce cas, les cristaux qui en résultent sont généralement moins groupés et plus petits. On observe, alors de fausses lamelles hexagonales allongées qui sont, en réalité, des cristaux bipyramidaux surbaissés à base hexagonale allongée. C'est ce dont témoignent les lignes axiales apparentes, de ces lamelles, qui sont, en réalité, constituées par la projection des côtés des pyramides sur le plan hexagonal.

6° Allyl-isopropylmalonylurée. (Dans le schéma général, remplacer a par C^3H^5 et b par C^3H^7.) Ce composé est le barbiturique dont l'association, avec le pyramidon, constitue le médicament appelé allonal, lequel sera examiné plus loin. Dans la figure III, nous le désignons sous le nom de Pro-allonal. Sa caractéristique microscopique (Fig. III, à droite) consiste dans la présence de lamelle hexagonales très allongées, i, souvent mâclées et mélangées de petits rhombes j: on les obtient, surtout, par agitation et friction.

Par simple superposition et diffusion lente d'acide sulfurique dilué, apporté au contact de la solution ammoniacale, il se produit d'abord de très petites granulations sphéroïdes dans lesquelles se forment et se développent, en 4 ou 5 minutes, des arborescenses formées de sortes de branches rugueuses K constituées, elles mêmes, par un groupement latéral ou axial, de cristaux hexagonaux.

Cette apparence est, également, particulière à l'allyl-isopropylmalonylurée.

Il faut prendre garde, en effectuant ces préparations, de n'ajou-

ter l'acide sulfurique dilué qu'avec mesure. Sans cela, un excès de cet acide dissoudrait les cristaux d'abord formés et ceux ci n'apparaissent de nouveau — et encore si cet excès n'est pas trop grand — que par une friction circulaire prolongée. Ils se présentent alors, principalement, sous l'aspect de pyramides à base rhombe, tronquées.

7° Allonal. — Ainsi qu'il l'a été dit plus haut, l'allonal est le résultat de l'association du pyramidon avec l'allyl-isopropyl-malonylurée. Le barbiturique qui le constitue y sera décelé, comme s'il était seul, par l'emploi successif de l'ammoniaque et de l'acide sulfurique dilué, avec les formes hexagonales, simples ou groupées qui le caractérisent.

Quant au pyramidon, on l'ydécélera, avec la plus grande facilité, à l'aide d'une solution saturée (1 p. 100) environ, d'acide picrique. Pour cela, on humectera quelques parcelles d'allonal d'une très minime gouttelette d'eau puis, sans friction, on délayera simplement la préparation dans une gouttelette un peu plus importante de solution picrique. Bientôt apparaissent des groupements de prismes jaunes, étroits et allongés réunis autor d'un centre ou en arborescences, formés de picrate de pyramidon. Si l'on procède, au contraire, par frictions circulaires jusqu'à apparition d'un fin précipité adhérent à la lame de verre, on observe des cristaux jaunes, trapus, plus petits que les précédents, surtout très nets à un plus fort grossissement, se présentant sous l'aspect de rhombes, de dodécaèdres rhomboïdaux et aussi, en bien moins grand nombre, de pyramides allongées.

En résumé, la caractéristique du véronal consiste en lames rectangulaires isolées ou groupées; celle du sonéryl, en longues aiguilles, généralement effilées à leur extrémité et divergeant d'un centre.

Le rutonal est caractérisé par des lamelles hexagonales régulières soit isolées, soit le plus souvent imbriquées à la façon du cholestérol hydraté ou encore groupées de façon à simuler des feuillages; le gardénal ou luminal, pas des oursins; le dial, par des lamelles hexagonales régulières ou à côtés inégaux, de petits rhombes ou des imbrications hexagonales ou rhombiques; enfin, l'allyl-isopropyl-malonylurée par des lamelles hexagonales allongées ou par de petits rhombes.

Quant à l'allonal, composé du corps précédent et de pyramidon, on devra, pour l'identifier, déceler à la fois le barbiturique précédent par les formes cristallines qui viennent d'être indiquées et le pyramidon par les faisceaux de prismes jaunes, allongées, rayonnant plus ou moins régulièrement autour d'un centre que donne, avec lui, l'acide picrique.

Aucune confusion n'est possible entre ces divers composés, surtout si l'on prend des témoins purs, traités dans les mêmes conditions, comme termes de comparaison. Même le dial et le rutonal, dont les formes cristallines se ressemblent le plus, peuvent être différenciés par une réaction complémentaire consistant à en chauffer quelques parcelles, sur une lame de verre — par exemple — dans l'air chaud surmontant immédiatement une toute petite flamme, après les avoir réparties dans une goutte d'acide sulfurique formolé à 2 p %. Avec les barbituriques à substitution phénylée, tels que le rutonal et le gardénal, il se produit, à un moment donné, une coloration brun sépia intense qui diluée dans l'eau, après refroidissement, disparait pour faire place à un précipité.

Avec les véronalides non phénylés, il se forme seulement une teinte brun rougeâtre qui, à poids égal de produit est beaucoup plus faible que le précédente et que l'addition d'eau atténue sans entrainer la production d'un précipité.

Gravimetric microanalysis of berillium silicate rocks.

The Separation and Quantitative Determination of Phosphoric Acid and Aluminium.

By **Hilde Thurnwald** and **A. A. Benedetti-Pichler.**

Departement of Chemistry, Laboratory of Micro-chemistry, Washington Square College, New York University, New York, N. Y.

(Eingelangt am 21. März 1931.)

This paper represents part of the research carried out in order to solve the problem of making an exact gravimetric analysis of a beryllium mineral containing beryllium, aluminium, iron, magnesium, phosphoric acid and silicic acid. A previous publication[1]) dealt chiefly with the quantitative determination of the individual constituents of the mineral and also a general scheme for the analysis was presented. Some of the separations involved in this plan of separation were investigated experimentally.

After removal of the silicic acid by heating with hydrofluoric and sulfuric acids, the first step is the determination of the phosphoric acid by precipitation of the complex molybdenum compound and its removal at the same time from the solution in which the cations are to be determined. The molybdenum of the excess reagent must then be removed in order to permit the determination of the aluminium as oxyquinoline compound. Some steps of the whole procedure have already been investigated, to wit, the determination of phosphoric acid, the precipitation of the molybdenum with hydrogen sulfide and the determination of aluminium.

[1]) A. A. Benedetti-Pichler and F. Schneider, Mikrochemie, Emich-Festschrift, 1930.

The possibility of obtaining satisfactory results by the use of the combined methods in the course of a complete separation remained to be determined. The probability of the incomplete precipitation of the phosphoric acid and molybdenum and occlusion of aluminium by the molybdenum sulfide must be taken into consideration. Furthermore, the introduction of impurities into the solution by the different reagents as well as from the glass of the vessels and the asbestos of the filters may have an additive effect on the determination of the aluminium. The errors introduced by the adsorption of the filters and by the possibility of the introduction of dust into the material under examination must also not be overlooked in the course of a lengthy separation.

In fact, as shown later, not only must a number of special precautions be observed, but also the procedure in the individual operations had to be modified to permit the final determination of the aluminium. Although the description of the final method takes but a few lines, it is the result of a lengthy and tedious investigation. Our desire to save the time and labor of colleagues interested in similar work is the reason for the following detailed description.

The Determination of Phosphoric Acid.

The determination of the phosphoric acid was first modified in order to avoid the use of an empirical factor in the calculation of the percentage P_2O_5. In the new method the molybdate precipitate is dissolved in ammonia and the phosphoric acid reprecipitated and weighed as magnesium ammonium phosphate[2]).

In using the method for the precipitation of the molybdate complex in the course of the separation, it was found that the great excess of reagent used gave such a large amount of molybdenum sulfide in the subsequent removal of the molybdenum that proper filtration and washing could not be carried out. In the filtration the filter became clogged sooner or later and it was never certain that the aluminium salt had been completely extracted. Furthermore it was found to be very difficult to obtain a complete precipitation of the large amount of molybdenum. It was obvious that

[2]) The details of this work will appear shortly in the „Zeitschrift für analytische Chemie".

the amount of reagent used in the precipitation of phosphoric acid had to be reduced.

H. Lieb[3]) uses 15 cc of the molybdate reagent and 2 cc of a mixture of sulfuric and nitric acids for the precipitation of 0,3 to 3 milligrams of phosphoric acid in about 30 cc of solution. Benedetti-Pichler and Schheider had already reduced this large amount of reagent to 1,5 cc of the molybdate solution and 0,2 cc of the acid mixture and work with only 1 cc of phosphate solution. But even under these conditions an excess of about 100 to 200 mg of ammonium molybdate was used for the precipitation.

In an attempt to work with a smaller excess of reagent it was found tha the reagent used in organic microanalysis does not give complete precipitation. It was therefore replaced by a reagent prepared according to H. and W. Biltz[4]). Furthermore the volume of this reagent necessary was always calculated so that the excess did not exceed 0,1 to 0,3 cc or 10 to 25 mg of ammonium molybdate. Under these conditions, a quantitative precipitation of the phosphate ion was always obtained. Furthermore this reagent did not introduce large amounts of sulfate ion into the solution which is important in the subsequent precipitation of the molybdenum sulfide.

The Removal of Molybdenum by Precipitation as Sulfide.

A solution containing only chlorides and hydrochloric acid was found to be the most favorable for the precipitation of the molybdenum sulfide. The nitric acid was first removed by evaporation to dryness after addition of a large amount of hydrochloric acid. The precipitation was carried out in a test tube of Pyrex glass, the open end of which was drawn out into a wide capillary tube. The air in the tube was first displaced by hydrogen sulfide and the liquid shaken in order to saturate it with the gas.

[3]) F. Pregl, Die quantitative organische Mikroanalyse, page 167 (Berlin 1930).

[4]) Ausführung quantitativer Analysen, page 189 (Leipzig 1930). 8 grams of ammonium molybdate are dissolved in about 20 cc hot distilled water. This is then diluted with an aqueous solution of 20 grams of recrystallized ammonium nitrate (c. p.) to a volume of 50 cc. This mixture is slowly poured into 50 cc of a mixture of equal volumes of water and concentrated nitric acid with continuous stirring. The reagent obtained is allowed to stand for a day and then filtered. One cc of this reagent contains 80 mg of ammonium molybdate.

By alternately saturating the solution with hydrogen sulfide and heating on the water bath, the largest part of the molybdenum was precipitated. The solution was then once more saturated at room temperature and all of the air displaced by hydrogen sulfide and the tube closed by sealing the capillary end. The last traces of molybdenum were precipitated by heating five minutes in the boiling water bath. The precipitate was obtained in a rather coarse brown flocculent form which was easy to filter and wash.

Later the precipitation with hydrogen sulfide under pressure was carried out without sealing the tube.

If the precipitation is performed in a sulfuric acid solution, the solution usually becomes blue due to reduction after most of the molybdenum is precipitated. If this occurs it is very difficult to obtain a quantitative separation of the molybdenum. After the removal of the hydrogen sulfide and excess hydrochloric acid by evaporation to dryness, the aluminium may be determined.

The Determination of Aluminium.

The determination of aluminium can be carried out without difficulty as described in a previous paper[5]). But the fact that in the first series of separations carried out we obtained results for aluminium which were much too high was not entirely unexpected. The precipitate had a brownish-black, gray or grayish green hue instead of the slightly greenish-yellow of the pure aluminium oxyquinoline salt.

These results could not be explained by the incomplete removal of the molybdenum since the absence of this metal was shown by qualitative tests. Besides, the molybdenum oxyquinoline compound has an intense yellow color and in experiments in which mixtures of aluminium salt and molybdenum salt solutions were precipitated by oxyquinoline, yellow precipitates were obtained exclusively.

But it was known that solutions containing ferric iron and aluminium give precipitates having the grav and black colors mentioned. Therefore all of the reagents were tested for the presence of iron and traces of this metal were detected in the nitric

[5]) A. Benedetti-Pichler, Mikrochemie, Pregl-Festschrift (1929).

acid, hydrochloric acid, ammonium nitrate and even in the distilled water. These traces of iron were found to be sufficient to change the color of the aluminium precipitates and to increase their weight. It was found that even the smallest traces of iron which can be detected by the ammonium thiocynate or Prussiai blue test are carried down by the aluminium oxyquinolate precipitate as oxyquinoline compound. Since the weight of the oxyquinoline salt is about eight times as heavy as the iron present, it is obvious why not only is the color changed but also the weight of the aluminium precipitate is noticeably increased.

It was necessary to purify all of the reagents used very carefully and every possible precaution had to be observed to protect all of the apparatus and solutions from dust.

Purification of the Reagents.

N i t r i c a c i d : The nitric acid was prepared by distilling the purest grade obtainable in an all-quartz distilling apparatus collecting the distillate directly in the stock bottle.

H y d r o c h l o r i c a c i d : The hydrochloric acid was prepared by heating concentrated hydrochloric acid of the purest commercial grade in a distillation apparatus equipped with a quartz condenser. The HCl gas evolved was collected in water having one third the volume of the original hydrochloric acid. The acid should not be boiled. When no more gas is given off and a liquid condensate begins to form, heating is stopped.

A m m o n i u m n i t r a t e : The purest commerical salt was recrystallized from hot water and dried between filter paper.

H y d r o g e n s u l f i d e : The hydrogen sulfide was obtained compressed in steel cylinders. A gasometer was filled with it and it was led through a wash bottle filled with water and a filter of cotton. All of the rubber tubing used in making connections was first thoroughly washed with soap and water by pushing a glass rod through it.

Method of Analysis.

1,5 to 5 milligrams of potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4) and from 2 to 5 milligrams of potassium alum were used in the experiments on the method of separation.

A micro beaker of Fiolax glass without filter stick was cleaned. dried and weighed. Then the salts mentionde above were put into the beaker one after the other, weighing again after addition of each salt. They were dissolved in 0,3 cc dilute nitric acid (1 cc concentrated acid in 100 cc distilled water). The phosphate ion was then precipitated on the water bath by addition of the calculated amount of molybdate reagent. The calculation of the amount of reagent was based on the assumption that for 1 mg P_2O_5 the use of 0,5 cc of the reagent will insure complete precipitation. For n milligrams of P_2O_5, correspondingly n times 0,5 cc ob reagent are necessary. (Of course, in case the percentage of phosphate in the sample is unknown, a preliminary determination of the phosphoric acid must be carried out.)

The reagent was added drop by drop from a pipette and care was taken that the temperature of the water bath did not exceed 70° C. The solution was shaken after addition of the reagent and then allowed to stand on the water bath for 30 minutes. The solution was filtered off through a clean filter stick and the precipitate washed with 1 cc of a solution of 2 grams of ammonium nitrate and 1 cc of nitric acid in 100 cc distilled water. The wash liquid was applied in single drops and the precipitate was sucked as dry as possible after each addition. The filtrate and wash liquid were collected in a micro beaker of Fiolax glass (Filtrate # 1).

The ammonium phosphomolybdate precipitate finally remains distributed over the inside of the beaker in which it was precipitated, most of it on the asbestos mat of the filterstick. For dissolving the precipitate, the filter stick was disconnected from the suction and left in the beaker. 0,1 cc of 10% ammonia were then placed in the beaker. After a short time the yellow precipitate was no longer visible. The solution was now diluted by the addition of 0,4 cc of water and the whole liquid filtered through the filterstick into another micro beaker of Fiolax glass, which had been previously been weighed together with its filter stick. 0,5 cc of (luke warm) water were used to wash the beaker and filterstick free from the solution. This wash water was also added dropwise.

For the precipitation of the ammonium magnesium phosphate

the beaker with the solution was placed on a boiling water bath. As soon as the solution became hot, 0,1 cc of a 10% solution of $MgCl_2 \cdot 6\,H_2O$ in distilled water was added drop by drop. An amorphous precipitate formed immediately. The beaker was now removed from the water bath, the contents mixed by a rotating movement of the hand and one drop of 10% ammonia added. The precipitation was then allowed to stand for 15 to 20 minutes (the mouth of the beaker covered with a small watch glass). This period of time is sufficient to obtain a complete transformation of the gelatinous precipitate into needle shaped crystals of the ammonium magnesium phosphate.

Using the filter stick belonging to the beaker, the solution was filtered off and the precipitate washed first with 2 cc of 1% ammonia and then with 2 cc of methyl alcohol. Both wash liquids were applied in several small portions. The precipitate was finally dried at room temperature for 15 minutes in a current of air controlled moisture content according to L. W. Winkler and Benedetti-Pichler and Schneider (loc. cit. page 10).

In the meantime the filtrate = 1 was evaporated to dryness. This operation was carried out in the micro beaker which was heated on the water bath. A gentle current of air was blown over the surface of the solution in order to increase the rate of evaporation.

The air was supplied by a water pump and led through an empty wash bottle and a layer of cotton.

The residue was dissolved in 0,5 cc concentrated hydrochloric acid and the solution heated on the water bath (without blowing) until the odor of chlorine and nitrosyl chloride were no longer perceptible and the solution evaporated to about 0,25 cc at the same time. This volume is important because it determines the concentration of the acid for the precipitation of the molybdenum sulfide.

By the use of a capillary syphon working with a slight suction, the solution is now transferred from the beaker into the pressure tube. 1,25 cc of distilled water were used to rinse the micro beaker and the capillary siphon in order to collect the solution quantitatively in the pressure tube. The latter was made from a Pyrex test tube of 15 mm bore and 150 mm length, the open end

of which was drawn out to a thickwalled tube of 5 mm bore and 50 mm length.

The solution was saturated with hydrogen sulfide from the gasometer mentioned above by leading the gas at first through a narrow tube, the opening of which was brought close to the surface of the liquid. A strong stream of hydrogen sulfide was led in through the tube for a few seconds to displace the air. Then the latter was removed and the pressure tube connected directly with the gasometer by rubber tubing. The stopcock of the gasometer was opened and the solution saturated with hydrogen sulfide at room temperature for 5 minutes, shaking the solution from time to time. The rubber tube was then closed by means of a pinch cock near the mouth of the pressure tube, and the tube heated in the boiling water bath for 5 minutes with occasional shaking. After taking the tube from the water bath, the pinch cock was removed and the solution again saturated for 5 minutes at room temperature and the treatment on the water bath repeated as before. Finally the solution was saturated at room temperature for 2 minutes with hydrogen sulfide. In this way the molybdenum was quantitatively separated as a brownish black flocculent precipitate which was easy to separate from the solution.

Using a capillary syphon, the solution and precipitate were automatically transferred into a micro filter tube of the type used by F. PREGL for collecting and weighing the silver halides. Instead of the asbestos used by PREGL the filter tube was provided with a filter of cotton. Purest long-fiber cotton was placed dry in the filter tube and pressed slightly together. Care must be taken that the enlargement of the tube is completely filled with the cotton, which should also fill the lower third of the funnel shaped part of the tube. As wash liquid, three portions of 0,5 cc each of strongly diluted hydrochloric acid (a small test tube may be used as wash bottle) which had been saturated with hydrogen sulfide immediately before use. After each application of wash liquid, the latter was thoroughly sucked off.

The filtrate and wash liquid were collected in a micro beaker made of Fiolax glass previously weighed with its filterstick. The filtrate was then evaporated to dryness in this beaker (water

bath and air stream). The residue was moistened with one drop of concentrated hydrochloric acid and then dissolved by addition of 1 cc of distilled water. In this solution the aluminium was determined according to BENEDETTI-PICHLER[6]).

The following results were obtained using the procedure outlined above.

Taken		Obtained			
KH_2PO_4 mg	Alum. mg	$MgNH_4PO_4 \cdot 6$ H_2O mg	Al-oxy-quinol. mg	% P_2O_5 KH_2PO_4	% Al_2O_3 in alum.
3,155	2,344	5,691	2,270	52,19	10,75
1,435	4,235	2,590	4,110	52,23	10,77
1,505	2,656	2,715	2,565	52,20	10,72
4,595	4,745	8,290	4,620	52,21	10,80
			Theory . .	52,17	10,77

Summary.

A micro method for the separation and gravimetric determination of aluminium and phosphoric acid was developed. The procedure was as follows. The phosphoric acid was precipitated as ammonium phosphomolybdate. In the filtrate the excess of molybdenum is first precipitated with hydrogen sulfide and then the aluminium with oxyquinoline. The ammonium phosphomolybdate is dissolved in ammonia and the phosphoric acid reprecipitated and weighed as magnesium ammonium phosphate.

[6]) A. A. BENEDETTI PICHLER, Mikrochemie, PREGL-Festschrift, page 11 (1929).

Franz Dangl, Beitrag zur Untersuchung von Paraffinen, Stearin und ähnlichen Materialien.

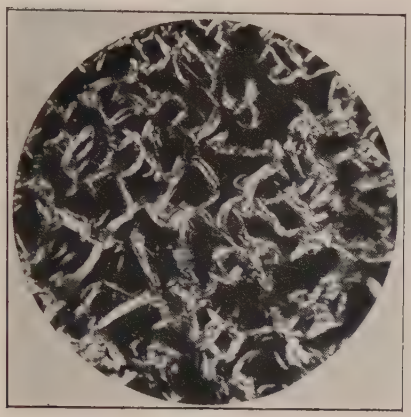


Abb. 1.
Paraffin im polarisierten Licht. Reicherts spannungsfreies Objektiv 5 p und Reicherts Zeiger-Doppel-Okular 5mal. Vergrößerung 170fach.

Abb. 2.
Bienenwachs im polarisierten Licht. Reicherts spannungsfreies Objektiv 7 p u. Reicherts Zeiger-Doppel-Okular 5mal. Vergrößerung 300fach.

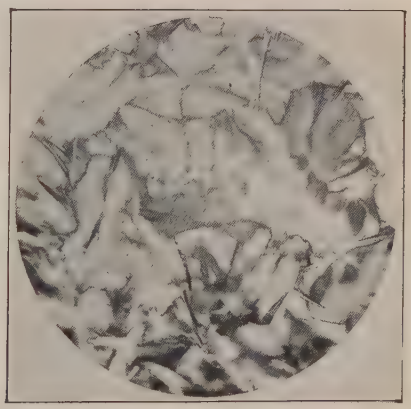


Abb. 3.
Stearin im polarisierten Licht. Reicherts spannungsfreies Objektiv 3 p u. Reicherts Zeiger-Doppel-Okular 5mal. Vergrößerung 170fach.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

Franz Dangl, Beitrag zur Untersuchung von Paraffinen, Stearin und ähnlichen Materialien.

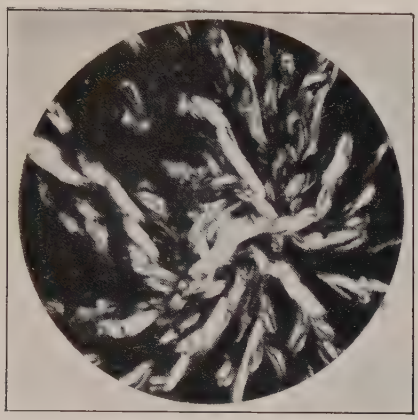


Abb. 4.
Kerzenmaterial im polarisierten Licht. Reicherts spannungsfreies Objektiv 5 p u. Reicherts Zeiger-Doppel-Okular 5mal. Vergrößerung 170fach.

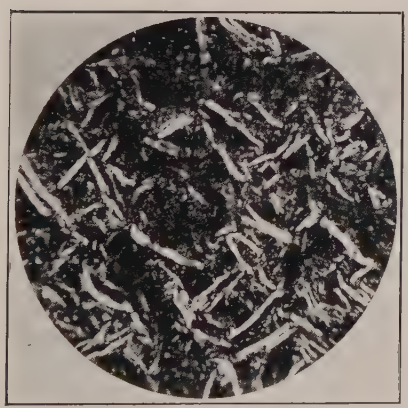


Abb. 5.
Kerzenmaterial im polarisierten Licht. Reicherts spannungsfreies Objektiv 5 p u. Reicherts Zeiger-Doppel-Okular 5mal. Vergrößerung 170fach.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

Beitrag zur Untersuchung von Paraffinen, Stearin und ähnlichen Materialien.

Von **Franz Dangl**, Wien.

(Eingelangt am 22. Dezember 1930.)

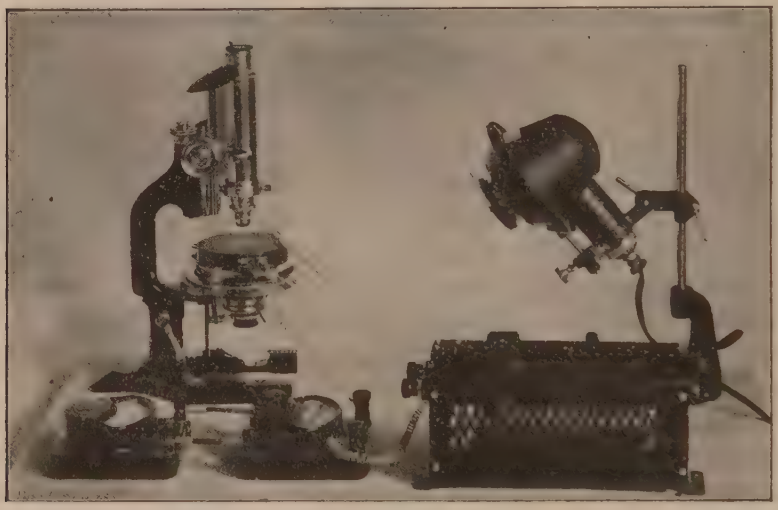
In der Literatur finden sich vereinzelt Angaben über den Nachweis von Paraffin in Mineralölen mit Hilfe polarisierten Lichtes, ohne jedoch weiter auf die Verwertungsmöglichkeiten dieser Untersuchungsmethode hinzuweisen. Es seien hier die Arbeiten Dr. Leo Gurwitsch', L. Emanueli's, E. Da Fano's, Y. Tanaka's erwähnt[1]). Die Untersuchungen des Verfassers hatten die Auswertung der optischen Anisotropie zu weiteren Bestimmungen zum Ziele.

In erster Linie ergab sich die Möglichkeit einer außerordentlich genauen und zuverlässigen Bestimmung des Schmelz- und Erstarrungspunktes mit Hilfe einer Mikromethode. Wird die zu prüfende Substanz im Mikroskop bei polarisiertem Licht, also bei gekreuzten Nikols, betrachtet, so tritt im erstarrten Zustande eine Aufhellung des Gesichtsfeldes ein und das Gefüge des Materials ist außerordentlich deutlich zu erkennen. In geschmolzenem Zustande bleibt das Gesichtsfeld dunkel. Ein wesentlicher Vorteil gegenüber der makroskopischen Bestimmung im Schmelzpunktröhrchen liegt nun in der Vermeidung des Mischschmelzpunktes, worauf, allerdings in anderem Zusammenhang, Prof. Gustav Klein bereits 1929 hinweist[2]). Es ist daher bei sorgfältiger Ar-

[1]) Dr. Leo Gurwitsch, Baku, Les Bases Scientifiques du Traitement des Huiles Minerales. L. Emanueli und E. Da Fano, Mailand, Über das abnormale Verhalten von paraffinhaltigen Mineralölen bei Viskositätsmessungen, Zeitschrift Erdöl und Teer, 1929, S. 547. Y. Tanaka, Referat von L. Singer, Wien, Erdöl und Teer, 1929, S. 169.

[2]) Gustav Klein, Ein bewährter Mikroschmelzpunktapparat, Zeitschrift Mikrochemie, Pregl-Festschrift, 3. September 1929.

beitsweise und Verwendung geeigneter Hilfsgeräte möglich, die physikalischen Konstanten der Komponenten eines technischen Produkts sowie annähernd auch deren Mengenverhältnis zu ermitteln. Zur Durchführung dieser Untersuchungen eignet sich am besten ein Polarisationsmikroskop, die sogenannten mineralogischen Instrumente, mit ausrückbarem Tubusanalysator, doch kann auch ein vorhandenes Mikroskop gewöhnlicher Bauart durch Hin-



Apparatur zur Schmelzpunktbestimmung im polarisierten Lichte. (Hergestellt von C, Reichert, Wien).

zufügen eines Mikropolarisationsapparats mit Kondensor und auf das Okular aufsetzbaren Analysators herangezogen werden. Zur Erwärmung des Präparats diente der elektrische Mikroheiztisch nach G. KLEIN[3]). Über einen regelbaren Widerstand wird der Heiztisch an die Lichtleitung angeschlossen.

Da größere Kristalle ungleich und verzögert schmelzen, empfiehlt sich die Verwendung eines Spezialobjektträgers. Dieser besitzt in der Mitte einen etwas erhöhten Sockel von kleinerem Durchmesser als das Deckgläschen und ist überdies von einer ringförmigen Rille umgeben. Durch die starke Adhäsion, welche infolge der Beschränkung der Auflagefläche auf das Deckglas ausgeübt

[3]) G. KLEIN, Mikrochemie, PREGL-Festschrift, 1929, S. 192.

wird, wird dieses auf den Sockel förmlich aufgepreßt. Die überschüssige Präparatenflüssigkeit fließt in die vorerwähnte Rille ab und die Schichtdicke des Präparats wird auf das geringste Maß herabgesetzt. Die derart vorbereiteten, bezw. auf einem solchen Objektträger aufgeschmolzenen Substanzen lassen außerordentlich genaue Untersuchungen zu.

Abgesehen davon, daß die geringsten Mengen der Substanz zur Bestimmung des Schmelz- oder Erstarrungspunktes ausreichen, ist es auch möglich, aus Geweben Tropfspuren leicht und unter Vermeidung von Lösungsmitteln auf den Objektträger zu bringen, indem man die angetropfte Stelle nicht zu nahe am Rande durch einen Messerschnitt teilt, mit der Schnittstelle auf einen Objektträger bringt und ein Deckgläschen derart auflegt, daß es am Objektträger aufruht und das Gewebe längs der Schnittstelle berührt. Beim Erwärmen zieht sich das aufgetropfte Material in den von Deckglas und Objektträger gebildeten keilförmigen Hohlraum.

Bei der Schmelzpunktbestimmung unter dem Mikroskop ist zu beachten, daß der KLEIN'sche Heiztisch nach jeder Messung wieder auf Raumtemperatur abgekühlt wird, da eine geringfügige Senkung der Tischtemperatur unter den Schmelzpunkt der Substanz und neuerliche Wärmezufuhr durch Einschalten des Stromes durch Störung des gleichmäßigen Wärmeflusses in der Heizplatte zu Fehlergebnissen führen kann. Die Abkühlungsdauer der Platte kann durch Auflegen einer gußeisernen Scheibe wesentlich beschleunigt werden.

Dient zur Temperaturmessung eine elektrische Einrichtung, Thermoelement oder Widerstandsthermometer, so kann die gesamte Apparatur leicht registrierend, bezw. automatisiert werden, da der Schmelzpunkt durch die Aufhellung über eine lichtelektrische Zelle ebenfalls einfach und exakt ermittelt wird und somit eine Temperatur- und Helligkeitskurve aufgenommen werden kann. Der scharfe Knick in letzterer ergibt den Schmelz-, bezw. Erstarrungspunkt. (Patent angemeldet.)

Die vorerwähnte Bestimmung des Mengenverhältnisses der bei verschiedenen Temperaturen schmelzenden Anteile eines Produkts kann mit Hilfe eines Netzokularmikrometers erfolgen, welches in das Okular des Mikroskops eingelegt wird und nunmehr, den Methoden der Mineralogie folgend, eine Auszählung gestattet. Auch

durch Ziehen einer Indikatrix, einer möglichst langen, im übrigen beliebigen Linie über die Bildfläche (Mikrophotographie) ist eine Mengenbestimmung möglich, da der Flächenanteil eines Produkts der Summe der Indikatrixlängen seiner Durchschnitte entspricht. Das Verhältnis der einer Komponente zugehörigen Indikatrixstrecke zur Länge der ganzen Indikatrix ergibt den volumetrischen Anteil der Komponente.

Das Verfahren der Schmelzpunktbestimmung mit polarisiertem Lichte ist jedem anderen dadurch weit überlegen, daß jede Änderung im Material präziser durch die Helligkeitsschwankungen gekennzeichnet ist. In manchen Fällen wird sich die Verwendung eines Gipsplättchens empfehlen, wodurch dank der Farbenwirkung die Unterscheidung noch erleichtert wird. Untersuchungen im auffallenden oder durchfallenden gewöhnlichen Licht strengen die Augen in höherem Maße an, führen daher zu rascher Ermüdung des Beobachters und ergeben bei Paraffinen und ähnlichen Substanzen nie so präzise Merkmale. Die Möglichkeit, eine Bestimmung jederzeit unter gleichen Verhältnissen wiederholen zu können, wird auch in manchen Fällen angenehm empfunden werden. Da das Präparat leicht aufbewahrt werden kann und keiner weiteren chemischen oder physikalischen Veränderung unterliegt, ist dies ohne weiteres möglich. Abweichungen bei Wiederholung der Messungen, wie sie bei Kapillarrohrmethoden wohl kaum zu vermeiden sind, konnten bei den bisherigen Versuchen nicht festgestellt werden.

Außer der bisher behandelten Möglichkeit, Schmelz- und Erstarrungspunkt auf Grund der optischen Anisotropie leicht und genau mit Mikromengen zu bestimmen, ergaben sich auch für die verschiedenen zu prüfenden Substanzen jeweils typische Strukturen, wobei sich die Anwendung eines Lösungsmittels erübrigte und nur die reine, unveränderte Materialprobe zur Untersuchung gelangte. Auch hier ist als nennenswerter Vorteil der Umstand anzuführen, daß nach erfolgter Untersuchung das Präparat dauernd zur Nachprüfung zur Verfügung steht und nicht wie bei chemischen Methoden vernichtet wird.

Besonders für Identitätsprüfungen erscheint dieser Umstand wichtig, da entweder durch Vergleich der Mikrophotographien oder aber durch Untersuchung der zu vergleichenden Substanzen mit zwei Instrumenten und Anwendung eines Vergleichsaufsatzes, wo-

bei von jedem Präparat jeweils die Hälfte unmittelbar neben dem anderen im Okular, bezw. auf der Mattscheibe der mikrophotographischen Kamera erscheint, die erforderlichen Schlüsse gezogen werden können. Außer der Struktur kann bei diesen Untersuchungen noch das Verhalten bei eingeschaltetem Gipsblättchen als Materialmerkmal dienen, da bekanntlich in der Additionsstellung die Farbe steigt, in der Subtraktionsstellung jedoch sinkt. Am besten werden die Beobachtungen wohl an Hand von Mikrophotographien besprochen. Tafel V, Fig. 1 zeigt Paraffin handelsüblicher Qualität bei 170facher Vergrößerung. Es erscheint als wirre Lagerung schmaler stab- bis lanzettartiger Individuen, vorwiegend paarweise parallel. Durch das Fehlen feiner Partikelchen erscheint reines Paraffin als verhältnismäßig lockeres Gebilde. Die Untersuchung mit dem Gipsblättchen ergibt positive Doppelbrechung in bezug auf die Längsachse der Individuen. Bienenwachs, auf den ersten Blick dem Paraffin vielleicht ähnlich, unterscheidet sich von diesem durch das feine Füllmaterial, ist in der gesamten Struktur zarter, außerdem kommt nur selten eine parallele Lage der Individuen vor. Tafel V, Fig. 2 zeigt Bienenwachs bei 300facher Vergrößerung. Ganz anderen Aufbau zeigt Stearin, welches bereits bei 50facher Vergrößeung durch das laubartige Gefüge leicht zu erkennen ist. (Tafel V, Fig. 3.) Am besten wird der Vorteil der Strukturuntersuchung wohl durch die Tafel VI, Fig. 4 und Tafel VI, Fig. 5 vor Augen geführt, welche Kerzenmaterialien darstellen, die anläßlich eines Kriminalfalles zu prüfen waren. Der Schmelzpunkt wich bei beiden Proben nur unwesentlich voneinander ab, außerdem standen nur ganz geringe Mengen zur Verfügung. Die Aufnahme zeigt deutlich die Verschiedenheit der beiden Präparate.

Außer für wissenschaftliche und kriminalistische Untersuchungen dürfte das angegebene Verfahren auch in der Industrie, so z. B. bei Kabelfabriken, in der Kerzenindustrie, bei der Erzeugung von Ölpapier und Ölleinen, eine einfache und rasche Kontrolle des Rohmaterials ermöglichen. Auch in der Lack- und Harzindustrie ergeben sich wertvolle Anhaltspunkte, über welche jedoch in einer anderen Abhandlung eine übersichtliche Zusammenstellung gebracht werden soll.

Contribution a la Détermination Microchimique de l'Azote d'après Pregl (Microdumas)

Par **Firmin Govaert.**

Du laboratoire de chimie générale et toxicologique de l'université de Gand.

(Eingelangt am 2. März 1931.)

Parmi les différents dosages microanalytiques des éléments dans les substances organiques, c'est sans aucun doute la détermination microvolumétrique de l'azote qui a trouvé le plus de partisans parmi les chimistes.

Car, s'il est vrai que la technique de la microanalyse organique s'acquiert assez vite grâce aux divers procédés si méticuleusement décrits par PREGL, il est certain que pour le débutant c'est la détermination de l'azote qui est la plus facile à exécuter. C'est aussi le microdumas qui dès le commencement lui fournit des résultats inespérés et lui inspire une entière confiance dans ces méthodes.

Cependant, malgré la simplicité et l'exactitude de ce dosage, le microdumas exécuté selon la méthode de PREGL présente des inconvénients.

I. Préparation de l'anhydride carbonique en se servant d'un appareil de Kipp.

Pour arriver à avoir un courant d'anhydride carbonique rigoureusement pur, critérium de résultats exacts lors de l'analyse, il est indispensable d'attacher une importance toute spéciale au remplissage de l'appareil de KIPP.

Différentes précautions doivent être prises pour chasser l'air dissout dans l'acide chlorhydrique et adsorbé à la surface inté-

rieure de l'appareil. En outre il faut attendre assez longtemps avant d'obtenir les bulles microscopiques. Ceci ne serait pas un grand inconvénient si toutefois, le remplissage achevé, on pouvait employer le KIPP jusqu'à épuisement des produits réagissants.

Seulement quand dans un laboratoire les dosages d'azote ne se font qu'à des intervalles de quelques semaines ou même de mois, il arrive très souvent qu'on est obligé, lors d'une nouvelle détermination, de refaire toutes les manipulations nécessaires à chasser complètement l'air de l'appareil. Ce fait, dû probablement à une diffusion de l'air à travers les bouchons de l'appareil dans l'acide chlorhydrique, entraine la nécessité d'attendre de nouveau un à deux jours avant que le gaz soit entièrement absorbé par la lessive de potasse.

Par conséquent, lorsqu'on n'a pas à faire des analyses d'une manière continue — et ceci est le cas pour tous les chimistes organiciens, qui n'ont recours à cette méthode que pour identifier un produit azoté obtenu en quantités très faibles au cours d'une recherche — l'on voit disparaître un des principaux avantages du microdumas: la rapidité de son exécution.

L'appareil de KIPP fut déjà abandonné en 1926 par E. BERL et H. BURKHARDT qui préconisent l'emploi de magnésite. Ces auteurs font usage d'un tube en verre trés peu fusible fermé d'un côté. Ils y introduisent d'abord une couche de magnésite de cinq centimètres de long et ensuite la couche d'oxyde de cuivre.

Cette manière d'opérer présente d'abord la difficulté de régler convenablement le débit d'anhydride carbonique et ensuite l'inconvénient de devoir vider complètement le tube, chaque fois qu'il s'agit de renouveler la magnésite épuisée.

C'est pourquoi nous avons eu recours à un autre apparail qui nous a donné entière satisfaction dans les nombreuses analyses faites jusqu'ici. (Fig. 1).

La combustion de la substance se fait dans un tube en quartz entièrement rempli suivant les indications données par PREGL.

Une des extrémités du tube est reliée à un tube en quartz t' par l'intermédiaire d'un tube en T dont la partie verticale plonge dans un flacon laveur rempli de mercure jusqu'à une certaine hauteur. Le tube t' moins long mais plus large que le tube à combustion est rempli de magnésite et sert de générateur d'anhydride car-

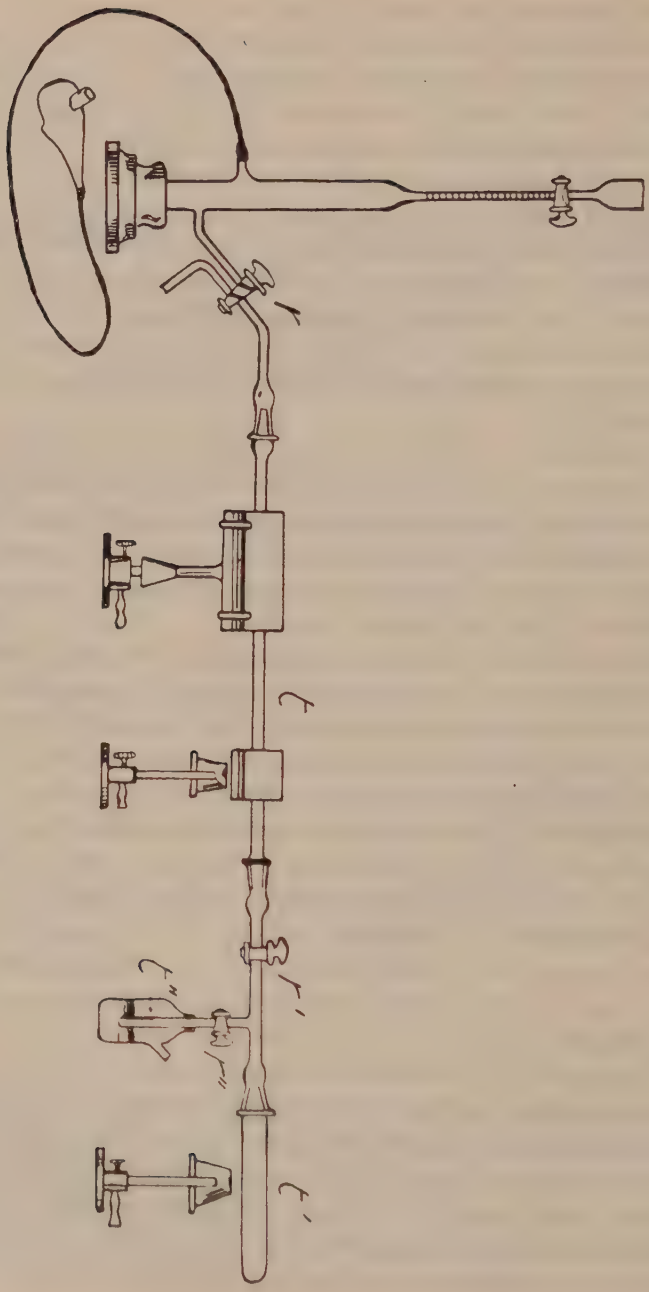


Fig. 1.

bonique. Un robinet r' permet de régler facilement le courant de CO_2. Toutes les communications de l'appareil se font à l'aide de joints rôdés verre sur quartz.

Les joints à chaque extrémité du tube à combustion sont graissés à l'aide de lanoline, tandis que le tube à magnésite est fixé à demeure sur le tube en T en enduisant le bouchon à chaud d'une cire speciale[1]). Celle-ci est employée par PREGL pour assurer l'étanchéité des rodages de ses tubes d'absorption dans le dosage du carbone et de l'hydrogène.

II. Evacuation de l'atmosphère de l'appareil.

Si on se contente de chasser l'air contenu dans le tube à combustion en le déplaçant par un courant d'anhydride carbonique, on doit attendre un temps assez long, relativement à la durée totale de l'opération, avant d'obtenir les bulles microscopiques.

De plus ce déplacement nécessite des quantités notables de gaz carbonique.

Pour éviter cet inconvénient nous suivons la méthode donné par SHINTARO OGAWA. Cet auteur intercalle entre le microazotomètre et le tube à combustion un robinet à deux voies r. L'une permet de faire le vide dans l'appareil, tandis que l'autre met l'azotomètre en communication avec le tube à combustion. Toutefois, au lieu d'employer comme OGAWA une trompe à eau pour l'obtention du vide, nous nous servons d'une pompe à huile permettant d'atteindre en quelques secondes une pression d'un millimètre de mercure.

Pour les substances peu volatiles ce vide avancé n'entraine aucune perte de produit. D'autre part dans le cas où la tension de vapeur de la substance à analyser n'est plus négligeable à la température ordinaire, l'on comprend très bien que ce vide, produit pendant quelques secondes ne peut certainement pas déterminer une perte plus grande que le fait de faire passer sur la substance pendant un temps assez long une quantité importante d'anhydride carbonique.

Si pourtant, l'extrême volatilité du produit ne permettait pas

[1]) Une partie de cire blanche pour quatre parties de colophane. Point de fusion: environ 50° C.

l'évacuation du tube, à la température ordinaire, rien ne s'oppose à faire le vide dans l'appareil pendant que l'on refroidit énergiquement la partie de l'oxyde de cuivre renfermant la substance. On effectue facilement ce refroidissement grâce au dispositif suivant: Un bloc d'aluminium composé de deux parties a et b (fig. 2)

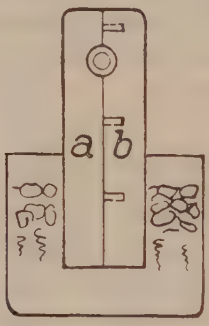


Fig. 2.

et s'adaptant parfaitement sur le tube à combustion est plongé avec la partie inférieure dans un bain réfrigérant approprié. Le choix de ce dernier dépend évidemment de la volatilité du produit. Une fois l'équilibre de température établi, l'on peut faire le vide dans l'appareil sans aucune crainte de perdre de la substance.

Quand l'air contenu dans le tube est remplacé entièrement par de l'anhydride carbonique, on enlève le bloc métallique et la combustion est faite comme d'habitude.

Mode Opératoire. La substance à analyser est introduite dans le tube, en suivant rigoureusement toutes les indications données par PREGL.

Une fois l'appareil complètement monté on commence à chauffer la magnésite, le robinet r″ seul étant ouvert. On règle la flamme de manière à avoir dans le tube t' une pression d'anhydride carbonique telle qu'il se dégage de temps en temps une bulle à travers le mercure du flacon laveur. Grâce au robinet r l'appareil est ensuite relié à la pompe à huile et on fait le vide dans le tube t pendant quelques secondes. On ferme alors le robinet r tandis que l'on ouvre prudemment r'. Le tube t se remplit d'anhydride carbonique mais en même temps le mercure monte dans le tube t″, étant donné le vide avancé qui règne dans l'appareil. Toutefois si

l'on manoeuvre le robinet r' avec précaution il est assez facile de garder le niveau du mercure constant jusqu'au moment ou la pression dans le tube à combustion étant égale à celle dans le tube t', l'anhydride carbonique se dégage de nouveau par le flacon laveur.

Après une seconde évacuation du tube suivie de remplissage avec de l'anhydride carbonique on met l'appareil en communication avec le microazotomètre et on obtient d'emblée les bulles microscopiques. La combustion est ensuite effectuée entièrement d'après la méthode donnée par PREGL.

Le tube de magnesite que nous employons a un diamètre intérieur de onze millimètres et une longueur de quinze centimètres. La quantité de carbonate de magnésium qu'il renferme suffit amplement pour faire dix à quinze dosages.

Les résultats de quelques analyses, données ci-après, montrent que les modifications apportées au microdumas de PREGL, ne diminuent en rien l'exactitude de la méthode.

La quantité de substance mise en oeuvre variait de trois à six milligrammes.

Produit	% N Calcule	% N Trouve
$C_6H_5\,SO_2\,NH\,COC_6H_5$	5,37	5,30
$C_6H_5\,CH_2\,SO_2\,NHCOC_6H_5$	5,09	5,03
$\alpha\,C_{10}H_7\,SO_2\,NHCOC_6H_5$	4,50	4,55
(I) $Cl\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2\,NHCOCH_3$ (4)	6,00	6,03
(I) $Cl\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2\,NHCO\,C_6H_5$ (4)	4,74	4,68
(I) $Br\text{-}C_6H_4\text{-}SO_2\,NHCOC_6H_5$ (4)	4,12	4,14
p $CH_3\text{-}C_6H_4\text{-}C(NOH)\text{-}C_6H^4C_6H_5$ p	4,88	4,82
p $CH_3O\text{-}C_6H_4\text{-}C(NOH)\text{-}C_6H^4C_6H_5$ p	4,61	4,65
$\alpha\,C_{10}H_7\text{-}C(NOH)\text{-}C_6H_4C_6H_5$ p	4,33	4,40
$\beta\,C_{10}H_7\text{-}C(NOH)\text{-}C_6H_4C_6H_5$ p	4,33	4,37

Ce travail a été effectué au laboratoire de chimice générale et toxicologique sous la direction du professeur Goubau.

Bibliographie.

F. Pregl: Die quantitative organische Mikroanalyse. Springer, Berlin 1917.

E. Berl und H. Burkhardt: Über eine rasch auszuführende halbmikrochemische Stickstoffbestimmungsmethode. Berichte, 59, Jahrg. 1926, 5, 897—900.

Shintaro Ogawa: Eine verbesserte Mikro-Dumas-Bestimmung des Stickstoffes. Science Reports Tôhoku Imp. Univ. 16.667 (1927). C. 1928, I, 380.

Über Vakuumsublimation unter dem Mikroskop.

Von **L. Kofler** und **W. Dernbach.**

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.

(Eingelangt am 1. April 1931.)

In einer vor kurzem in diesem Archiv erschienenen Arbeit besprechen EDER und HAAS[1]) in ausgezeichneter und erschöpfender Weise die großen Vorteile der Mikrosublimation und die Vor- und Nachteile der einzelnen Durchführungsverfahren. Die Autoren weisen ferner auf die Vorzüge der Mikrosublimation unter vermindertem Druck hin und empfehlen für diesen Zweck den EDER'schen Apparat[2]). Auch KLEIN und WERNER[3]) bevorzugen für viele Zwecke die Anwendung des Vakuums bei der Mikrosublimation und beschreiben eine Modifikation des EDER'schen Apparats, die die Möglichkeit einer Kühlung der Vorlage bietet. EDER und HAAS erblicken hierin jedoch keine Verbesserung gegenüber dem ursprünglichen EDER'schen Apparat.

EDER und HAAS unterbrechen von 10 zu 10° Temperatur die Sublimation, nehmen das Deckglas aus dem Apparat und betrachten es bei schwacher Vergrößerung unter dem Mikroskop. Diejenige Temperatur, bei der ein erster Anflug von einem Sublimat beobachtet werden konnte, bezeichneten sie als Sublimationsanfangstemperatur. Bei dieser Temperatur wurde dann die Sublimation

---

[1]) R. EDER und W. HAAS, Mikrochemie, EMICH-Festschrift 1930.

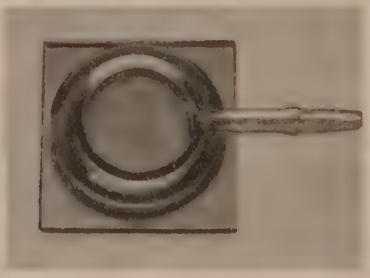
[2]) R. EDER, Über die Mikrosublimation von Alkaloiden im luftleeren Raum. Diss. Zürich 1912.

[3]) G. KLEIN und O. WERNER, Hoppe-Seylers Ztschr. f. physiologische Chemie, 143, 142 (1925); G. KLEIN, Praktikum der Histochemie, Verlag Springer, 1929, S. 12.

längere Zeit fortgesetzt. Wenn die Sublimation hier zu langsam verlief, wurde die Badtemperatur weiter um 10 bis 20° über die Sublimationsanfangstemperatur erhöht. Genügte auch das noch nicht, so wurde die Temperatur weiter gesteigert, bis bei 5 bis 10 Minuten dauernder Sublimation ein genügend reichliches, gut ausgebildetes Sublimat erhalten wurde. „In dieser Weise wurde in Intervallen von zirka 20° je 10 Minuten sublimiert, das Deckglas jeweils zwischendurch herausgenommen, unter dem Mikroskop betrachtet und eventuell ausgewechselt."

Dieses fortwährende Unterbrechen der Sublimation zwecks mikroskopischer Feststellung, ob und was für ein Sublimat sich gebildet hat, fällt weg, wenn man die Vakuumsublimation unter dem Mikroskop durchführt. Sublimationen unter dem Mikroskop wurden von KLEIN[4]) und seinen Schülern auf dem KLEIN'schen Mikroschmelzpunktapparat schon vielfach durchgeführt. Wir selbst verfolgten vor kurzem unter dem Mikroskop die Sublimationsvorgänge anläßlich von Mikroschmelzpunktbestimmungen bei Arzneimitteln[5]). Eine Einrichtung zur Sublimation unter vermindertem Druck bei gleichzeitiger mikroskopischer Beobachtung ist unseres Wissens bisher nicht bekannt. Es soll daher ein sehr einfacher Apparat mitgeteilt werden, der sich in unserem Institut gut bewährt hat.

Die Vorrichtung besteht aus einer quadratischen Glasplatte



mit $3^1/_2$ cm Seitenlänge, auf die eine Mikrovakuumglocke aufgeschliffen ist. Besser als aus der Beschreibung ergibt sich das Aussehen der Einrichtung aus der beigefügten Abbildung. Die Mikro-

[4]) G. KLEIN, Mikrochemie, PREGL-Festschrift 1929.

[5]) L. KOFLER und W. DERNBACH, Arch. Pharmazie u. Ber. d. Dtsch. pharmaz. Ges., 269, Heft 2, 1931.

vakuumglocke trägt ein seitlich angesetztes Röhrchen zum Anschluß an den Vakuumschlauch. Die Höhe der Glocke beträgt 6 mm. Die obere Wand der Glocke muß parallel der unteren Glasplatte und planparallel sein, damit die mikroskopischen Bilder nicht verzerrt werden. Die Mikrovakuumglocke wurde nach unseren Angaben von der Glasbläserei P. Haack, Wien, IX., hergestellt. Die Mikrosublimation kann auf dem Mikroschmelzpunktapparat von Kofler und Hilbck[6]) oder auf jedem anderen mikroskopischen Heiztisch ausgeführt werden, der es ermöglicht, die auf der Glasplatte herrschende Temperatur abzulesen. Bei der mikroskopischen Beobachtung lassen sich bis zirka 135fache Vergrößerungen anwenden, in der Regel genügen geringere Vergrößerungen. Zur Durchführung der Sublimation wird eine kleine Menge Untersuchungsmaterial entweder in Substanz auf die Glasplatte gebracht oder als Lösung in geeigneter Weise abgedampft. Das zum Auffangen des Sublimats bestimmte runde Deckglas ruht entweder auf seitlich von der Substanz aufgelegten Splittern eines Deckglases oder Objektträgers oder auf einem Ring aus Glas oder Metall. Die Anwendung eines Ringes hat vor den Glassplittern den Vorteil, daß die Dämpfe weniger leicht seitlich entweichen können. Die Höhe des Ringes kann je nach dem gewünschten Sublimationsabstand bis zu 4 mm beliebig gewählt werden. Zum Einfetten des Schliffes zwischen Mikrovakuumglocke und Glasplatte benützen wir Ramsay-Fett zäh. Es ist darauf zu achten, daß sich innerhalb der Glocke an deren Innenwänden und auf der Glasplatte kein Fett befindet, weil dieses sublimiert und das Sublimat oder die Innenseite der Glocke verunreinigt. Die Mikrovakuumglocke wird an eine Wasserstrahlpumpe angeschaltet, mit der wir im Institut 12 bis 11 mm Quecksilberdruck erreichen. Wenn in Ausnahmsfällen eine Kühlung des Deckglases gewünscht wird, klebt man das Deckglas mit einem Tröpfchen wasserfreiem Glycerin an die Innenseite der oberen Wand der Mikrovakuumglocke und kühlt die Glocke von außen durch Auflegen einer in der Mitte zum Durchtritt des Lichtes durchlochten Filtrierpapierscheibe, die man durch Auftropfen von Wasser feucht hält. Diese Kühlung pflanzt sich nun allerdings auch auf die Glasplatte fort, so daß die Temperatur

[6]) L. Kofler und H. Hilbck, Mikrochemie, **9**, 38 (1931).

des auf ihr liegenden Sublimationsgutes in diesem Fall etwas niedriger ist, als der Schmelzpunktapparat anzeigt.

Das Verhalten der ursprünglichen Substanz, das erste Auftreten der Sublimate, ihre Form und alle Umbildungsvorgänge lassen sich während des ganzen Versuches ohne Unterbrechung mikroskopisch verfolgen. Je nach den dabei beobachteten Erscheinungen kann die Geschwindigkeit des Temperaturanstieges oder das Stehenbleiben auf einer bestimmten Temperatur jederzeit beherrscht werden, ohne daß das Vakuum abgeschaltet oder der Versuch unterbrochen werden muß. Die Möglichkeit, den Versuch ohne Unterbrechung zu Ende zu führen, bedingt ein einfaches und rasches Arbeiten. Die fortlaufende mikroskopische Beobachtung gewährleistet die Gewißheit, daß weder das erste Auftreten noch irgendeine im Sublimat vor sich gehende Veränderung übersehen wird. Die schließlich erhaltenen Sublimate selbst zeigen naturgemäß keine wesentlichen Unterschiede gegenüber den Sublimaten, die man bei der Vakuummikrosublimation in anderen Apparaten bei gleicher Temperatur erhält.

Unsere Mikrovakuumglocke ist ebenso einfach wie der Apparat von Eder, sie hat aber den Nachteil, daß sie den Besitz eines entsprechenden Mikroschmelzpunktapparates voraussetzt. Ein solcher ist derzeit wohl nur in wenigen Instituten vorhanden und es wird sich kaum jemand entschließen können, einen Mikroschmelzpunktapparat nur wegen der Vakuummikrosublimation anzuschaffen. Es soll aber bei dieser Gelegenheit betont werden, daß auch die Mikrosublimation ohne Vakuum bei der Durchführung auf einem Mikroschmelzpunktapparat mit der Möglichkeit ständiger mikroskopischer Beobachtung anderen Versuchsanordnungen weit überlegen ist. Ferner sei auf die außerordentlichen Vorteile der Mikroschmelzpunktbestimmung hingewiesen, die namentlich bei der Untersuchung und Indentifizierung von Mikrosublimaten immer mehr hervortreten. (Vergl. z. B. Fischer und Stauder[7]), Kofler[8]), Kofler und Dernbach[9]). In vielen Fällen liefert die Mikroschmelzpunktbestimmung bei der Identifi-

[7]) R. Fischer und F. Stauder, Mikrochemie, **8**, 330 (1930).

[8]) L. Kofler und A. Kofler, Mikrochemie, **9**, 45 (1931).

[9]) L. Kofler und W. Dernbach, Arch. Pharmazie u. Ber. d. Dtsch. pharmaz. Ges., 269, Heft 2, 1931.

zierung eines Mikrosublimates den sichersten Anhaltspunkt, der außerdem ohne Substanzverlust und in einfacher Weise gewonnen werden kann, vorausgesetzt eben, daß ein Mikroschmelzpunktapparat zur Verfügung steht.

Zusammenfassung.

Es wird eine einfache, in Verbindung mit einem Mikroschmelzpunktapparat zu benützende Vorrichtung zur Vakuumsublimation beschrieben und abgebildet, bei der die Sublimation unter dem Mikroskop fortlaufend beobachtet werden kann.

On organic Ultra Micro-Analysis.

Determination of Carbon and Hydrogen on Fractions of a milligram of substance.

(Vorläufige Mitteilung.)

Contribution from the Department of Chemistry, Laboratory of Microchemistry, Washington Square College, New York University, New York, N. Y.

By **J. B. Niederl** and **J. R. Meadow.**

(Eingelangt am 19. März 1931.)

Theoretical part.

When PREGL[1]) in 1911 held his first demonstration of his carbon and hydrogen micro method, even so spectacular at that time, few realized that the amounts of substance used for analysis, even though amounting to only a few milligrams, could be decreased still further.

In inorganic analysis in 1915 EMICH[2]) had already performed quantitative determinations of amounts of only hundreths mg. This would encourage an attempt to refine the organic micro methods to such an extent that still smaller amounts could be analyzed successfully in a quantitative way. In biological or physiological research, the analysis of a few organic crystalls occurring in living cells, both plant or animals, and just visible under the microscope, but isolable by means of a micromanipulator, would quite often aid to an enormous degree our understanding of the processes taking place in living material.

Usually at present only guesses can be made as to the nature

[1]) ABDERHALDEN, Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden, Vol. 5, 1307—1356.
[2]) EMICH, Monatsh., **36**, 427 (1915).

of such substances supported by one or the other color or precipitation reaction. For conclusive identification of organic compound the ultimate quantitative analysis is the most acceptable one; the final goal of all micro analytical efforts, both inorganic and organic, must be, however, the conclusive identification of the individual substance occurring in the living cell and avoiding "sum-reactions" heretofore ured.

It is self-evident, that the development of organic micro analysis to the refined stage outlined before, will be a gradual one, a gradual refinement of the existing methods and their adaptation to smaller and smaller amounts.

In the following an account will be given of a method for quantitative analysis of carbon and hydrogen in samples weighing fractions of a milligram.

The essential feature of the method is the absorption of carbon dioxide from the combustion in a prepared solution of barium hydroxide. The barium hydroxide solution is contained in an especially-made absorption tube which permits filtration, washing, drying and weighing of barium carbonate. The percentage carbon is calculated from the weight of the barium carbonate obtained.

Various ingenious methods have been proposed for determining carbon in organic compounds. Only a few of these which might have some bearing on micro-analytical work will be mentioned here. It will be of interest especially to note the methods of some who have recommended the use of barium hydroxide as an absorbent for carbon dioxide.

A semi-micro method has been proposed by M. Polonovski[3]) where in the carbon dioxide from a 50 mg sample is absorbed in barium hydroxide and the barium carbonate precipitate weighed on an ordinary analytical balance.

Barium hydroxide has been recommended as an absorbent for carbon dioxide by several experimenters in this field. L. Bauzil[4]) suggests a wet combustion method using chromic and sulfuric acids and passing the carbon dioxide into barium hydroxide. The resulting barium carbonate is titrated with standard hydrochloric acid.

[3]) Polonovski, Bull. Soc. chim., **35**, 414 (1924).

[4]) Bauzil, Journ. Pharm. chim., **17**, 317 (1918).

A. RENAUD[5]) recommends a similar method. It differs, however, in that he passes the carbon dioxide into an ammoniacal solution of $CaCl_2$ or $BaCl_2$ and titrates the precipitated carbonate with standard acid.

An improved method for the determination of carbon by the wet combustion method using barium hydroxide as absorbent is described by HIBBARD[6]), in which the sample is digested in a KJELDAHL flask with chromic and sulfuric acids.

M. NICLOUX[7]) describes a wet micro-determination of carbon using silver chromate as a catalyzer. Carbon dioxide is absorbed in KOH and barium carbonate precipitated by addition of $BaCl_2$. Carbon is then determined by titration with standard HCl. Accurate results are reported when only three milligrams of carbon is present in the sample.

WILDE and LOCHTE[8]) have described a rapid method for determining carbon using from 80 to 200 mg of the substance and combusting it in a colorimetric bomb. The barium carbonate is determined as usual by titration.

It is interesting to note that J. NEEDHAM[9]) has determined the carbon dioxide by first precipitating barium carbonate as in the other methods, and then liberating the carbon dioxide from the carbonate by action of tartaric acid, the volume of which is then measured in a HALDANE gas buret.

An interesting method for determining carbon dioxide by absorbing it in barium hydroxide solution and measuring the resistance change of the solution in relation to its concentration is described by CAIN and MAXWELL[10]).

Mention should be made of the application of similar methods to the determination of carbon in steel. J. H. WHITELEY[11]) treats the sample of steel with HNO_3 and passes the carbon dioxide into an ammoniacal solution of $BaCl_2$ whereby soluble barium carbamate is formed. At a temperature of 100° this is changed to

[5]) RENAUD, ibid., **18**, 106 (1918).

[6]) HIBBARD, Journ. Ind. Eng. Chem., **11**, 941 (1919).

[7]) NICLOUX, Compt. rend., **184**, 890 (1927).

[8]) WILDE JR. and LOCHTE, Journ. Amer. chem. Soc., **47**, 440 1925).

[9]) NEEDHAM, Biochem. Journ., **17**, 431 (1923).

[10]) CAIN and MAXWELL, Journ. Ind. Eng. Chem., **11**, 852 (1919)

[11]) WHITELEY, Trans and Steel Ind., London, 1917.

insoluble barium carbonate which can be weighed as such. A sample as large as two and one half grams is usually taken.

J. R. CAIN recommends[12]) a barium carbonate titration method for determining carbon in iron and steel which is similar in principle to others mentioned.

W. J. KING[13]) describes a method for determining small quantities of carbon in tungsten by combustion using samples which weigh from 0,016 gram to 0,3 gram. The barium carbonate is filtered off and the excess barium hydroxide is titrated with standard acid.

A method of determining carbon in iron and steel using barium hydroxide is given by THANHEISER[14]) and DICKENS[15]). The apparatus can be used for gravimetric determination of carbon as barium carbonate or for titration of the barium carbonate precipitate.

The application of barium hydroxide absorption of carbon dioxide to micro methods offers several distinct advantages. The procedure enables one to weigh a precipitate of barium carbonate which is sixteen and a half times the weight of the element sought (carbon).

This makes it possible to reduce the size of the sample of material for analysis to 0,500 milligram and less. The greatest possible degree of precision at present is about 0,5% error, since the ordinary micro-balance weighs only to the third decimal place. To a limited extent this error can be overcome by using ultra-micro chemical balance.

The method will also enable one to attain greater accuracy. By using a larger amount of the substance (1 to 2 mg) and appropriate modifications, more accurate results can be obtained than by using the soda-lime tubes. For example, if from the combustion of 2,727 mg of material, the carbon dioxide is weighed directly (soda-lime absorption) then an error in weighing of 0,01 mg of carbon dioxide will correspond to 0,10% carbon. However with

---

[12]) CAIN, Journ. Ind. Eng. Chem., **6**, 485 (1914).

[13]) KING, Journ. Amer. chem. Soc., **47**, 615 (1925).

[14]) THANHEISER and DICKENS, Mitt. Kaiser-Wilhelm-Inst. f. Eisenforschung, Düsseldorf, **9**, 239 (1927).

[15]) DICKENS, Chem. Fabr., 293 (1928).

the barium hydroxide absorption method an error of 0,01 mg barium carbonate will correspond to only 0,02% carbon.

Since the size of the sample is usually about one-tenth that of the ordinary sample used, the time required to make the determination is very much less. The complete combustion can usually be made in about fifteen minutes. It should also be mentioned in this connection that the combustion can easily be followed by observing the formation of the precipitate.

In the quantitative determination of hydrogen no changes were made, as in this case a high factor (1 : 9) and the comparatively much lower hydrogen content, compared to that of carbon already gives the basis of further refinement a priori.

A further refinement of the method set forth herein is dependent upon a micro-chemical balance of higher sensitivity than that of KUHLMANN's and research in this direction is already being undertaken by Dr. A. BENEDETTI-PICHLER and his assistants in this laboratory.

Experimental Part.

Apparatus. (Fig. I and Fig. II.)

As pointed out before the only important change in the analytical procedure was the introduction of barium hydroxide solution for the absorption of the carbon dioxide formed in the analysis. After numerous trials the absorption tube, shown in Figure I, was adapted as the most suitable.

Essentially the absorption tube is a combination of PREGL's[16]) halogen filter tube, with necessary provisions for the passage of the combustion gases, for the introduction of the barium hydroxide solution and for the filtration of the barium carbonate formed.

The tube is about 60 mm in length and 7—8 mm in inner diameter. A capillary inlet extends from about 10 mm of the upper end to about 5 mm above the asbestos layer. At the lower end the tube is constricted above and below the asbestos filter pad in the fashion of PREGL's halogen filter tubes and finally ends in a capillary of 20 mm in length.

[16]) PREGL, Quant. Organic Micro Analysis, P. Blakiston's Sons & Co., Philadelphia (1930).

The preparation of thes absorption tube for analysis is as follows: A few pieces of asbestos previously ignited are introduced and a little distilled water added without suction. When this has filtered off a few cc of „milk of asbestos" are added with suction. The asbestos is now washed first with hot chromic acid, then nitric acid and finally rinsed with distilled water. The drying procedure is carried out as follows. Two or three cc of alcohol

Fig. I: Barium hydroxide absorption tube.
A: Combustion gases inlet;
B: Asbestos filter pad;
C, C′: Constrictions.

are added following the washing with distilled water, after which one or two cc of pure ether are added. The tube is then placed in a PREGL copper drying block which maintains a temperature of 120—125° C and at the same time air is drawn through the tube by means of suction using PREGL's air filter to prevent the advent of dust particles through the open end. At the end of ten minutes the tube is removed, placed in a suitable rack and allowed to cool for ten minutes. Precaution should be exercised in wiping the tube. No foreign material should be in the small portion of the tube just below the asbestos; this is wiped with a small piece of cotton

on a wire. Any other visible material that should not be on the tube wiped off. It is now wiped once with a damp cloth, then with chamois until it rubs smoothly, usually three times is sufficient. It is again placed in the rack for ten minutes (any static electri-

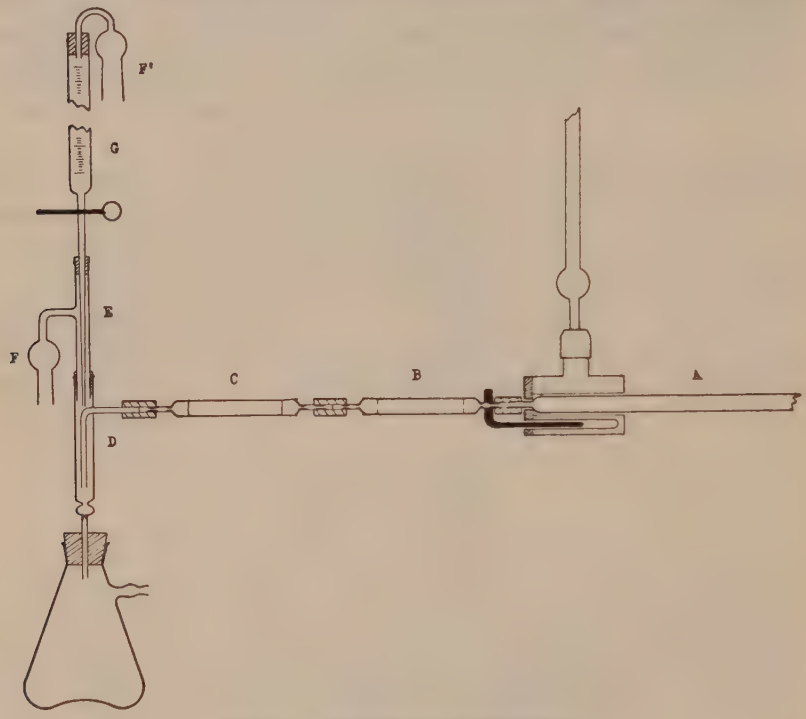


Fig. II: Absorption arrangement.

A: Combustion tube;
B: CaCl absorption tube;
C: CaCl tube;
D: Ba(OH) absorption tube;
E: Addition tube;
F, F': Soda lime tubes;
G: Burette.

city should have been discharged by this time) and then weighed. It usually requires several minutes for it to attain a constant weight.

One of the first difficulties encountered was that of washing out the barium hydroxide solution completely. One can very easily

make an error of 0,10 mg in the final weighing of the barium carbonate unless careful technique is employed in washing the precipitate. Several blank tests were made, where the tube was weighed, 1,5 cc barium hydroxide added and this washed out by different means, and finally the tube dried and reweighed. The following table gives some of the results.

	Original Wt. of tube	Final Wt. of tube	Difference	Vol. of Wash Water used.
1.	1,700 mg	1,800 mg	— 0,100 mg	3 cc 30% Alc. — 3 cc 95%
2.	0,429 mg	0,298 mg	— 0,131 mg	4,5 cc hot H_2O — 4,5 cc cold
3.	0,693 mg	0,623 mg	— 0,070 mg	2,3 cc hot — 7 cc cold
4.	0,623 mg	0,633 mg	— 0,010 mg	0,5 cc hot — 4,5 cc cold
5.	0,407 mg	0,414 mg	— 0,007 mg	0,5 cc hot — 4,5 cc cold
6.	5,832 mg	5,835 mg	— 0,003 mg	0,5 cc hot — 4,5 cc cold

Number one shows that alcohol is not sufficient to wash out the barium hydroxide. The addition of warm water to Nos. 2 and 3 evidently exerted some solvent action on the barium carbonate which had already been precipitated on the asbestos and was included in the original weight of the tube. This gave a decrease in the final weighing. The results given in numbers 4, 5 and 6 indicate that the washing procedure used in these instances is fairly adequate; however, the presence of a finely divided precipitate as barium carbonate complicates matters somewhat and necessitates more careful washing.

Method.

The combustion of the sample at A (Figure II) is carried by the usual PREGL[17]) method, the water being absorbed in the calcium chloride tube B and the carbon dioxide precipitated as barium carbonate in tube D. F is a small soda-lime tube to prevent absorption of carbon dioxide from the air. In order to add more barium hydroxide, if needed, during the combustion, a pipette or burette is placed at E in the setup. Since the mouth of tube D is very small it is not feasible to use a two hole stopper. This necessitates an arrangement as shown in Fig. II which permits the

[17]) F. PREGL, loc. cit.

addition of the barium hydroxide solution and the outlet of air and oxygen through the same stopper. It is well to mention that the barium hydroxide must be added very slowly, otherwise it seriously interferes with the regulation of pressure.

For a half milligram of sample not more than 30 cc of oxygen and 25 to 35 cc of air are needed. This requires about fifteen minutes. It has been found that using the Mariotte flask to measure the volume of air and oxygen used is not necessary and really complicates the determination.

The carbon dioxide is bubbled through about one cc of a clear, saturated barium hydroxide solution containing 0,1 cc ethyl alcohol. At least one cc of solution is kept in the tube by additions from the burette from time to time, some of it having filtered slowly through the asbestos. When precipitation is completed the barium carbonate precipitate is carefully washed. Necessary precautions must be taken to exclude atmospheric CO_2 from any barium hydroxide solution still in the tube.

After completion of the combustion (the initial combustion requires about 7 minutes and the sweeping out process about 8 minutes (or 30 cc of oxygen and 30 cc of air), the calcium chloride tube (which is only 50—60 mm in length and 5—6 mm in inner diameter) is first removed, then the stand with the carbon dioxide absorption apparatus. The gas inlet of the latter may be protected with a soda lime tube. Suction is now applied and the supernatent barium hydroxide solution drawn off.

The burette is then removed and replaced by an air filter also containing soda lime. The washing of the precipitate of barium carbonate is finally effected as follows:

2 cc of hot distilled water (about 60°) are added in 2 portions and also the walls and the gas inlet tube rinsed; likewise an additional.

2 cc of cold distilled water (carbon dioxide free) are used making a total of exactly 4 cc of water necessary to wash out all of the barium hydroxide solution from the precipitate and asbestos. Finally the precipitate is washed twice with 1 cc of ethyl alcohol (95%).

The absorption tube, well protected by air filters, and connected to a suction pump is then placed in the copper drying block at

120—125° for 5 minutes, finally removed, cleaned and weighed as described before.

Results.

	Wheigt of substance:	Weight of $BaCO_3$:	Weight of H_2O:	Found: %C	Found: %H:	Calculated: %C	Calculated: %H
Alizarin . .	0,600 mg	6,980 mg	0,170 mg	70,75	3,17	70,0	3,33
	0,697 mg	7,940 mg	0,209 mg	69,30	3,35		
	0,596 mg	6,814 mg	0,161 mg	69,54	3,02		
	0,780 mg	9,005 mg	0,195 mg	70,21	2,80		
	0,481 mg	5,467 mg		69,32			
	0,689 mg	7,940 mg		70,09			
Succinic Acid	0,838 mg	5,700 mg	0,320 mg	41,30	4,30	40,58	5,10
Tri-chloro-di-nitro phenol	0,577 mg	2,590 mg		27,30		26,56	0,37
Ethyl alcohol	0,061 mg	0,543 mg		53,80		52,12	13,04
	0,026 mg	0,224 mg		51,80			

The work has been temporarily discontinued as a further improvement in the results is dependent upon a micro chemical balance of greater sensitivity than KUHLMANN's, which would permit a greater accuracy in the weighing of the sample to be analyzed.

Mikrochemische und luminescenzanalytische Untersuchung von Metalloberflächen.

Von **A. Kutzelnigg.**

Aus dem Technologischen Institut der Hochschule für Welthandel, Wien.

(Eingelangt am 19. März 1931.)

Die mikrochemische Methodik im Verein mit der Luminescenzanalyse ermöglicht es in vielen Fällen, eine qualitative Untersuchung von Metallwaren ohne merkliche Beschädigung des Materials durch die Probenahme bei geringem Zeitaufwande durchzuführen.

Verhältnismäßig selten handelt es sich um die reine und unveränderte Oberfläche eines massiven Metalles: denn weitaus die meisten Metallgegenstände des täglichen Gebrauches sind mit schützenden oder verschönenden Schichten metallischer oder nichtmetallischer Natur versehen.

I. Organische Überzüge.

Zunächst sollen die organischen Überzüge besprochen werden. Bevor das Metall selbst untersucht werden kann, müssen etwa vorhandene Schichten organischer Natur entfernt werden. In dieser Hinsicht empfiehlt sich ein Abreiben mit Aceton, das ein gutes Lösungsvermögen für viele Fette und Harze sowie für Nitro- und Acetylcellulose besitzt.

Das Vorhandensein solcher Schichten, die dem Auge oft kaum erkennbar sind, allenfalls auch ihre Natur, kann durch die Betrachtung im filtrierten ultravioletten Lichte einer Analysenquarzlampe erkannt werden.

Reine Metalloberflächen erscheinen im Ultraviolett dunkel und zeigen höchstens Spiegelungseffekte. Auch Metallverbindungen, wie Kupferoxydul, Kupferoxyd, Kupfersulfid, zeigen keine Fluores-

cenz. Dagegen fluorescieren Überzüge organischer Natur, je nach der Schichtdicke, mehr oder weniger stark. Besonders dünne Überzüge können noch erkannt werden, wenn ein blankes Metall als Vergleich herangezogen wird oder wenn der Überzug stellenweise mit Aceton oder einem anderen Lösungsmittel entfernt wird.

Einige Beobachtungen des Verfassers sind im folgenden zusammengestellt:

1. Zaponlack: hellgraugrüne, matte Fluorescenz.
2. Zaponlack, durch Auramin II gefärbt („Goldlack" auf Messing): leuchtend hellgelb.
3. Schellacküberzug: hellkreßgelb (gebleichter Schellack fluoresciert elfenbeinfarben).
4. „Goldlack"-Überzug (Lösung von gebleichtem Schellack in Spiritus, durch Drachenblut und Curcuma gefärbt): dunkelkreß.
5. Wachsüberzug: An dickeren Stellen hell, weißlich, sonst kaum sichtbar.
6. Aluminiumbronze, mit Wasserblau angefärbt (Tanninbeize): bleibt dunkel. Da auch die anderen gebräuchlichen basischen Farbstoffe, wie Methylviolett usw., keine Fluorescenz geben, erscheinen die Bronzepulver, wenn sie auf solche Weise gefärbt sind, dunkel.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Analysenquarzlampe in vielen Fällen Aussagen gestattet, die auf chemischem Wege, zumal bei derartig geringen Mengen an Substanz, nur schwierig zu erhalten wären.

II. Metallische Überzüge.

Die Bedingungen für eine mikrochemische Prüfung sind hier im allgemeinen günstig. Das Aussehen des Metalls gibt bereits Anhaltspunkte für die Untersuchung, so daß nur wenige Einzelproben durchzuführen sind; die Zahl der enthaltenen Bestandteile ist beschränkt. Die Probenahme kann entweder durch Abreiben auf einen Probierstein (Strichtafel) oder durch direktes Aufbringen eines Lösungsmitteltropfens erfolgen. Letzteres geschieht am besten mit Hilfe einer Glaskapillare[1]), mit welcher der Tropfen nach genügender Einwirkung auch wieder auf einen Objektträger übergeführt wird. Überzüge der üblichen Dicke werden bei dieser Behandlung kaum merkbar angegriffen. Sind die Schichten

[1]) F. Emich, Lehrb. d. Mikrochemie, München, Bergmann, 2. Aufl. (1926).

sehr dünn, so wird das Grundmetall auf einer Fläche von wenigen Quadratmillimetern bloßgelegt.

Die für den vorliegenden Zweck am besten geeigneten Reaktionen sowie die geeignetsten Lösungsmittel wurden auf Grund von Versuchen des Verfassers, die sich vor allem auf das angeführte Lehrbuch von F. EMICH stützen, im folgenden zusammengestellt.

1. Gold[2]).

Die Unterscheidung von echter und unechter Vergoldung erfolgt in bekannter Weise durch Prüfung des Striches auf dem Probierstein mit konzentrierter Salpetersäure. Während Gold unverändert bleibt, werden Kupfer-Zink-Legierungen leicht gelöst. Die auf Messing vielfach angewendeten Goldlacke können unter der Quarzlampe (s. oben) erkannt werden. Eine falsche Vergoldung kann auch im Lüstersude[3]) oder in anderen Beizen erzeugt werden. Es handelt sich dann um dünne Schichten von Bleisulfid, Kupfersulfid oder Kupferoxyd.

2. Silber.

a) Ein Tropfen einer Schwefelnatriumlösung erzeugt einen braunen Fleck.

b) Der auf einer Porzellantafel erzeugte Strich wird in konzentrierter Salpetersäure gelöst: der Probetropfen wird über einer Sparflamme eingedunstet. Nach Befeuchten mit verdünnter Essigsäure wird ein Körnchen Kaliumbichromat zugesetzt: Unter dem Mikroskop sind kreßrote Spieße von $Ag_2Cr_2O_7$ zu erkennen[4]).

c) Das Metall wird mit konzentrierter Salzsäure benetzt, welche genügend angreift. Das beim Eindunsten des Tropfens gebildete Silberchlorid wird aus Ammoniak umkristallisiert.

3. Kupfer.

a) Es wird ein Tropfen Ammoniak aufgebracht: die Lösung erscheint bei axialer Durchleuchtung in der Kapillare blau[5]).

[2]) Die Metalle sind der Spannungsreihe entsprechend angeordnet.

[3]) E. BEUTEL, Bewährte Arbeitsweisen der Metallfärbung. Wien, Braumüller. 2. Aufl. (1925).

[4]) F. EMICH, Lehrb. d. Mikrochemie, 140 (1926).

[5]) F. EMICH, Lehrb. d. Mikrochemie, 63 (1926).

b) Tripelnitritprobe[6]). Als Lösungsmittel dient Essigsäure.

4. Antimon.

Um Antimonüberzüge, welche Interferenzfarben zeigen, handelt es sich, wie der Verfasser feststellte, bei den Metallfärbungen, welche durch „Schlippen"[7]), das heißt durch die Einwirkung von Natriumsulfantimoniat auf Messing erzeugt werden.

Um das Antimon nachzuweisen, wird ein Tropfen verdünnter Salpetersäure auf dem Metalle verdunsten gelassen, sodann wird mit verdünnter Salzsäure aufgenommen und die Cäsiumjodostibitreaktion[8]) durchgeführt. Neben den charakteristischen Sechsecken wurden öfter große, spießige Kristalle beobachtet.

5. Zinn.

Sehr geeignet erwies sich die Reaktion von SCHMATOLLA[9]). Zur Lösung wird ein Tropfen konzentrierter Salzsäure verwendet. Dieser wird nach kurzer Einwirkung auf die Außenseite eines mit Wasser gefüllten Spitzröhrchens gebracht. Ist Zinn zugegen, so wird der Saum einer Bunsenflamme durch den Tropfen hellblau gefärbt.

6. Blei.

Zur Lösung wird Essigsäure verwendet. Der eingedunstete Tropfen wird mit Kaliumjodid versetzt: Nach dem Befeuchten erscheinen gelbe Blättchen von PbJ[10]).

7. Nickel.

Das Metall selbst oder die durch Abstreichen auf einer Strichtafel gewonnene Probe wird mit heißer, verdünnter Salpetersäure in Lösung gebracht; die Lösung wird eingedunstet und mit Ammoniak und einem Körnchen Dimethylglyoxim versetzt. Die Rotfärbung ist allenfalls erst unter dem Mikroskop zu erkennen.

8. Cadmium.

Der Nachweis gelingt leicht durch Abstreichen auf Porzellan,

---

[6]) F. EMICH, Lehrb. d. Mikrochemie, 140 (1926).

[7]) E. BEUTEL, Bewährte Arbeitsweisen der Metallfärbung. Wien, Braumüller, 2. Aufl. (1925).

[8]) F. EMICH, Lehrb. d. Mikrochemie, 150 (1926).

[9]) O. SCHMATOLLA, Chem. Ztg, 468 (1901), 831 (1930).

[10]) F. EMICH, Lehrb. d. Mikrochemie, 142 (1926).

Lösen in verdünnter Salpetersäure und Tüpfeln mit Schwefelwasserstoffwasser; Fällung von gelbem Cadmiumsulfid.

9. Eisen.

Es wird in verdünnter Salzsäure gelöst und auf einer Tüpfelplatte mit einem Körnchen Ferricyankalium versetzt; Bildung von Turnbullsblau.

10. Chrom.

Als Lösungsmittel kommt nur verdünnte Salzsäure in Betracht. Da die elektrolytisch erzeugten Chromüberzüge meist außerordentlich dünn sind, darf die Säure nur ganz kurz einwirken.

Einen empfindlichen Nachweis gestattet die Probe mit Diphenylkarbazid in der Ausführung nach F. Feigl[11]) (violette Färbung).

11. Zink.

Als sehr geeignet erwies sich die Kristallfällung mit Merkurirhodanid[12]). Zur Lösung wird verdünnte Essigsäure verwendet. Zu dem auf einen Objektivträger übergeführten Tropfen kann unmittelbar das Reagens zugesetzt werden, welches man erhält, indem man 3,5 g $HgCl_2$ und 3,3 g NH_4CNS in 5 ccm Wasser löst. Es entstehen federförmige Kristalle.

12. Aluminium.

Zur Erkennung von Al dient die Alaunreaktion[13]) oder die Morinreaktion[14]). Man betupft mit verdünnter Salzsäure, stumpft die erhaltene Lösung mit Natriumazetat ab, saugt in eine Kapillare und mischt in dieser mit Morinlösung. Die Fluoreszenz ist besonders schön unter der Quarzlampe zu erkennen.

III. Qualitative Prüfung auf bestimmte Verbindungen.

Der Nachweis bestimmter Verbindungen ist bei der Untersuchung von Metallfärbungen wünschenswert. Es kommen dabei vor allem Metallsulfide und -oxyde in Betracht.

---

[11]) F. Feigl in F. Emich, Mikrochemisches Praktikum, München, Bergmann. 2. Aufl., 143 (1931).

[12]) Vgl. z. B. Chemikerkalender, Berlin, Springer, 335 (1931).

[13]) F. Emich, Lehrb. d. Mikrochemie, 163 (1926).

[14]) F. Emich, Lehrb. d. Mikrochemie, 164 (1926).

Sulfide:

In einfacher und überaus empfindlicher Weise können Sulfidschichten durch die FEIGL'sche Azidreaktion nachgewiesen werden[15]). Als Reagens dient eine Mischung von n/5-Jod-Jodkalium Lösung mit n 5-Natriumazidlösung. Ein Tropfen dieses Gemisches wird mit Hilfe einer Kapillare auf die zu untersuchende Stelle gebracht. Ist Sulfid vorhanden, so wirkt dieses als Katalysator und die Mischung reagiert unter Entwicklung von Stickstoff. Die Stickstoffblasen können unter der Lupe leicht beobachtet werden.

Die Probe wurde in den nachfolgend angeführten Fällen angewendet und war stets positiv.

1. Silbersulfid: als fleckiger Anlauf auf Silber.
2. Kupfersulfid: a) als fleckiger Anlauf auf Kupfer;
   b) mit Schwefelleber geschwärztes Kupfer.
3. Bleisulfid: a) im Lüstersude erhaltene blaue Anlauffarbe;
   b) glänzendgraue Abscheidung.

Es ergab sich jedoch, daß auch einzelne Metalle, wie Ni, Al, Zn, An und Pt (nicht aber Kupfer und Silber), als Katalysator wirken, vor allem aber auch Kupferoxydul, weshalb auf die Abwesenheit dieser Verbindung zunächst geprüft werden oder das Verfahren von M. NIESSNER[16]) zur Anwendung gebracht werden muß.

Eine Kupferoxydulschichte wurde durch „Nitriten"[17]), das heißt Eintauchen des Kupfers in geschmolzenes Natriumnitrit erhalten: Die Gasentwicklung nach Zusatz des Reagenses war eindeutig zu beobachten. — Kupferoxydul, das aus FEHLING'scher Lösung erhalten worden war, löste ebenfalls die Reaktion aus. Auch die Oberfläche einer gebrauchten Kupfermünze (2-Groschen-Stück) gibt die Reaktion sehr deutlich.

An einer aus Kupferoxyd bestehenden Färbung („schwarzgebranntes" Kupfer[18]) trat die Zersetzung nicht ein.

---

[15]) F. FEIGL, Ztschr. anal. Chem., **61**, 454 (1922), **77**, 299 (1929).

[16]) Mikrochemie, **8**, 121 (1930).

[17]) E. BEUTEL, Bewährte Arbeitsweisen der Metallfärbung. Wien, Braumüller, 2. Aufl. (1925).

[18]) E. BEUTEL, Bewährte Arbeitsweisen der Metallfärbung. Wien, Braumüller, 2. Aufl. (1925).

Oxyde:

Kupfer-(1)-Oxyd läßt sich durch die Schwärzung auf Zusatz von verdünnter Schwefelsäure nachweisen, die auf der Kupferabscheidung entsprechend der Gleichung: $Cu_2O + H_2SO_4 = = CuSO_4 + Cu + H_2O$ beruht. Zur Prüfung dickerer Schichten kann zehntelnormale Säure verwendet werden, zur Untersuchung von dünnen Anlaufschichten dient besser hundertstelnormale Säure. — An Stelle einer Schwärzung ist unter Umständen auch eine Rotfärbung zu beobachten.

Verdünnte Salzsäure erzeugt einen weißen Fleck infolge der Bildung von Kupfer-(1)-Chlorid.

Kupfer-(2)-Oxyd löst sich in verdünnter Schwefelsäure ohne Bildung eines schwarzen Fleckes auf. In dickeren Schichten können die beiden Oxyde an ihrer Farbe unterschieden werden. Cu_2O ist rotbraun, CuO blauschwarz.

Zinkoxyd kann an der gelb bis kressen Fluorescenz unter der Quarzlampe erkannt werden. Zinkhydroxyd und basische Zinkverbindungen geben bläulichweiße Luminescenz.

Kupfer-(1)-Chlorid schwärzt sich bei Belichtung. Von Natriumthiosulfatlösung wird es ebenso wie Silberchlorid gelöst.

Eine neue Mikrobestimmung des Kohlenstoffs durch nasse Verbrennung.

Von **H. Lieb** und **H. G. Krainick.**

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Graz.

(Eingelangt am 3. März 1931.)

Es ist allgemein bekannt, daß die Bestimmung des Kohlenstoffs auf trockenem Wege bei einzelnen organischen Substanzen, insbesondere bei Salzen der Alkalien oder im biologischen Material, Schwierigkeiten bereitet. Daher hat schon J. MESSINGER[1]) im Jahre 1888 eine neue Methode zur Elementaranalyse auf nassem Wege ausgearbeitet, bei welcher die organische Substanz durch Erhitzen mit Chromsäure und konzentrierter Schwefelsäure zu Kohlendioxyd oxydiert wird, während der Stickstoff in Ammoniak übergeführt wird oder als solcher entweicht, Schwefel, Phosphor und Arsen in Schwefelsäure, Phosphorsäure und Arsensäure verwandelt werden. Die Halogene sollen nach MESSINGER's Angaben als solche entweichen und werden bei seiner Versuchsanordnung von konzentrierter Kaliumjodid- und Silbernitratlösung zurückgehalten. Bei der Einwirkung von Chromsäure-Schwefelsäure auf Chloride kommt es jedoch auch zur Bildung von Chromylchlorid (CrO_2Cl_2)[2]), das mit Wasser in Salzsäure und Chromsäure zerfällt. Das Jod ist, da es zu Jodsäure oxydiert wird, nicht flüchtig.

MESSINGER[3]) selbst überzeugte sich bald, daß aus vielen Substanzen bei der Chromsäure-Schwefelsäureoxydation neben Kohlendioxyd in mehr oder minder großen Mengen auch K o h l e n-

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., **21**, 2910 (1888).

[2]) A. BOIVIN, Bul. Soc. Chim. biol., **XI**, 1296 (1929).

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Ges., **23**, 2756 (1890).

oxyd entsteht, weshalb er sich veranlaßt sah, den Gasstrom zwecks völliger Oxydation noch über ein Gemisch von glühendem Kupferoxyd und Bleichromat zu leiten. Auch bei der Bestimmung des Gesamtkohlenstoffs im Eisen nach der Chromsäure-Schwefelsäuremethode wurde dieselbe Beobachtung gemacht und außerdem festgestellt, daß ein erheblicher Teil des Kohlenstoffs trotz des großen Überschusses an Chromtrioxyd je nach der verwendeten Eisensorte auch in Form von Kohlenwasserstoffen entweicht, weshalb der Gasstrom ebenfalls über glühendes Kupfer geleitet wird.

In der Folgezeit wurde die Anordnung von MESSINGER von verschiedenen Seiten zu verbessern versucht. FR. TANGL und G. KERESZTY[4]) modifizierten das Verfahren von MESSINGER für die Kohlenstoffbestimmung in tierischen Flüssigkeiten. Sie verlegten die Kühleranordnung in den Kolbenhals und schlossen an den Oxydationskolben eine vollständige Verbrennungseinrichtung an. SIMONIS und THIES[5]), die zur Oxydation ebenfalls Kaliumbichromat und Schwefelsäure benützen, haben die in der Literatur beschriebene Arbeitsweise und Apparatur einer zweckdienlichen Veränderung unterworfen. Sie bringen die Kühlvorrichtung, die mit Glaswolle beschickt ist, um mitgerissene Nebel zu kondensieren, wieder außerhalb des Kolbenhalses an und führen die Verbrennung zu Ende, indem sie die Gase durch ein Rohr mit glühendem Kupferoxyd leiten. Die Absorption des Kohlendioxyds erfolgt in allen Fällen entweder durch Kalilauge, Barytlauge oder durch Natronkalk. Auch andere Autoren (FLORENTIN[6]), DESGREZ[7]), SIMON[8]), NICLOUX[9]), BOIVIN[10]) bestätigen die Beobachtung über die Kohlenoxydbildung bei der nassen Verbrennung. Nur W. STEPP[11]) glaubt, bei der Bestimmung im biologischen Material auf die nachträgliche trockene Verbrennung mit glühendem Kupferoxyd verzichten zu können. Allerdings läßt er der Oxydation mit

[4]) Biochem. Ztschr., **32**, 266 (1911).
[5]) Köth. Chem.-Ztg., **36**, 917 (1912); **38**, 115 (1914); **44**, 348 (1920).
[6]) Chem. Zentralbl., **1923**, II., 217.
[7]) Vgl. Zitat 17.
[8]) Vgl. Zitat 13.
[9]) Vgl. Zitat 14.
[10]) Vgl. Zitat 15.
[11]) W. STEPP, Biochem. Ztschr., **87**, 135 (1918).

Chromsäure noch eine solche mit Kaliumpermanganat folgen[11a]). Etwa derselben Apparatur bediente sich in neuerer Zeit O. DEUTSCHBERGER[12]) für die Kohlenstoffbestimmung in Blutfiltraten und fand übereinstimmende Werte. Bei reinen Substanzen jedoch blieben seine Werte unter den berechneten zurück, wie z. B. bei der Bernsteinsäure (— 1,5%). Demnach stimmen fast alle Literaturangaben darin überein, daß die Chromsäure-Schwefelsäureoxydation keine vollständige Oxydation des Kohlenstoffs bewirkt, weshalb für die Erzielung genauer Resultate der nassen die trockene Verbrennung folgen muß.

Trotz der vielen Bemühungen zur Verbesserung und Vereinfachung der Methodik fand die Bestimmung des Kohlenstoffs auf nassem Wege nach dem Prinzip von MESSINGER verhältnismäßig wenig Anwendung, weil sie sehr zeitraubend und auch kostspielig ist; denn eine Analyse dauert wenigstens 3, oft bis zu 5 Stunden und erfordert etwa 150 bis 250 g reinste konzentrierte Schwefelsäure und 10 bis 20 g reinstes Kaliumbichromat.

Es ist das Verdienst des französischen Forschers L. J. SIMON[13]), zuerst gezeigt zu haben, daß einfache organische Stoffe der aliphatischen Reihe, wie Essigsäure und ihre Homologen, ungesättigte Monocarbonsäuren, aromatische Kohlenwasserstoffe nicht vollständig vergast werden, indem Zersetzungsprodukte entstehen, die der weiteren Oxydation mit Chromsäure-Schwefelsäure widerstehen. Im Silberchromat fand er jedoch einen Katalysator, der auch die schwerst verbrennlichen Körper im Gemisch mit Schwefelsäure bei etwa 100° völlig zersetzt. Doch ist dabei die Menge des entstehenden Kohlenoxyds meist beträchtlich größer als bei der einfachen Chromsäure-Schwefelsäureoxydation. SIMON hat auch eingehende Untersuchungen über den Einfluß der Konstitution organischer Verbindungen auf ihre Oxydierbarkeit durch

---

[11a]) Über die Anwendung von Kaliumpermanganat in schwefelsaurer Lösung, ohne und mit Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd, sowie von Katalysatoren, als Oxydationsflüssigkeit vgl. E. FREUND und G. BOTSTIBER, Biochem. Ztschr., **136**, 142 (1923); ferner G. BOTSTIBER, ebenda, **174**, 68 (1926); ferner B. LUSTIG, ebenda, **184**, 67 (1927).

[12]) O. DEUTSCHBERGER, Biochem. Ztschr., **198**, 268 (1928).

[13]) L. J. SIMON, Chem. Ztrbl., **1920**, II., 752; **1923**, II., 73, 217, 659; **1923**, III., 1612; **1923**, IV., 700; **1924**, I., 1752, 1902; **1924**, II., 729; **1925**, I., 413, 2554; **1925**, II., 393. Originalarbeiten in C. r. d. l'Acad. des sciences.

Silberbichromat-Schwefelsäure im Vergleiche zu der durch Kaliumbichromat-Schwefelsäure angestellt, die dartun, einen welch außerordentlich günstigen Einfluß auf den Aufschluß und die Geschwindigkeit der Oxydation das Silber hat, während andere Metallchromate, wie die des Cu, Hg, Co, Ni, Fe, Zn, durchaus nicht dieselben Dienste leisten können. Damit erst waren die Bedingungen zur all-

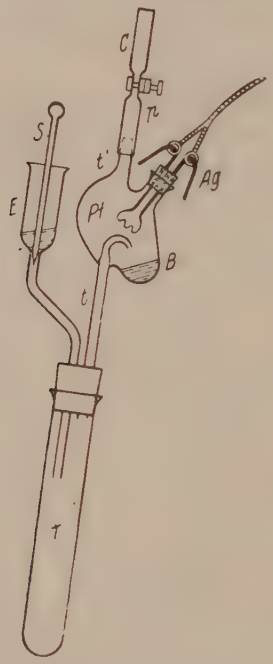


Abb. 1. Apparat nach Nicloux-Boivin.

gemeinen Anwendbarkeit der nassen Verbrennung in der Makroanalyse geschaffen und gleichzeitig auch die Grundlage für die Ausarbeitung einer mikroanalytischen Bestimmungsmethode gegeben.

Von M. Nicloux[14]) stammen die ersten Versuche zur nassen Verbrennung mit kleinsten Substanzmengen. Er bedient sich auf Grund der Feststellungen Simon's über die günstige Wirkung des

[14]) Bull. Soc. Chim. biol., IX., 639–677, 758–771 (1927); X., 1271 (1928).

Silberchromats als Oxydationsmittel eines Gemisches von Kaliumbichromat und Silberbichromat in konzentrierter Schwefelsäure und führt die Bestimmung bei 100° im evakuierten Apparat (Abb. 1) durch. Die Absorption des Kohlendioxyds erfolgt in etwa 2-norm. carbonatfreier Kalilauge, die sich in der Ausbuchtung des Kugelaufsatzes B befindet. Nach Beendigung der Oxydation muß die Absorptionslauge quantitativ aus dem Kugelaufsatz in ein Zentrifugengläschen gespült werden, in welchem dann durch Zusatz von Bariumchlorid das Carbonat als Bariumcarbonat gefällt wird. Der Niederschlag wird zentrifugiert, sorgfältig ausgewaschen, in überschüssiger 1/20-n. Salzsäure gelöst und in ein Erlenmeyerkölbchen gespült; die Säure wird mit 1/20-n. Kalilauge in der Hitze zurücktitriert. Die Gesamtdauer der Bestimmung beträgt etwa 40 Minuten. Die Methode ist mit gewissen Fehlern behaftet, da erstens die Reagenzien nicht vollständig gereinigt werden, zweitens die Bestimmung nicht in einem geschlossenen, CO_2-freien System erfolgt und drittens keine Vorsorge für die weitere Oxydation des aus vielen Verbindungen bei der Oxydation frei werdenden Kohlenoxyds getroffen ist. Als relativen Fehler der Methode gibt NICLOUX selbst etwa 1 bis 2% an. Für gewöhnliche biologische Untersuchungen hält er diese Genauigkeit für hinreichend. Die Kohlenoxydbildung versucht er weitgehend einzuschränken, indem er die in Wasser oder Alkalien gelöste Substanz von trockenem Natriumsulfat aufsaugen läßt und dadurch feinst verteilt. Sein Mitarbeiter A. BOIVIN[15]) fand in der Folgezeit, daß bei leicht oxydierbaren Körpern (Glucose, Oxalsäure, Weinsäure u. a.) die Kohlenoxydbildung so groß ist, daß nach dem einfachen Verfahren von NICLOUX keine brauchbaren Ergebnisse erzielt werden können. Daher führt er in den Kugelaufsatz B (Abb. 1) einen elektrisch zu heizenden Platindraht ein, an dem in der herrschenden Sauerstoffatmosphäre das Kohlenoxyd quantitativ zu Kohlendioxyd verbrannt werden kann. Mit Hilfe dieses modifizierten NICLOUX'schen Apparates führt er mit Einwaagen von 5 bis 16 mg in den verschiedensten organischen Verbindungen quantitative Kohlenstoffbestimmungen aus. Die relativen Fehler, auf 100 C bezogen, bewegen sich im allge-

[15]) Bull. Soc. Chim. biol., XI., 1269—1343 (1929).

meinen um 1% und überschreiten nur ausnahmsweise 2%. Auch diese Methode leidet darunter, daß sie mit einem Blindwert arbeitet und daß die Absorptionslauge mit der Luft in Berührung kommt.

Fast zur gleichen Zeit gestaltete L. LESCOEUR[16]) die Makromethode von A. DESGREZ[17]) zu einer Mikromethode um. Er trifft bei seiner Methode keine Vorsorge für die Oxydation des bei der nassen Verbrennung entstehenden Kohlenoxyds, obwohl DESGREZ bei seiner Makromethode glühendes Kupferoxyd anwendet. Daher ist LESCOEUR's Methode zur exakten Bestimmung des Kohlenstoffs abzulehnen. Die Absorption des Kohlendioxyds erfolgt dabei in kalter, gesättigter Barytlauge, aus der man die Kohlensäure durch Salzsäure wieder in Freiheit setzen und mittels eines besonderen Apparates[18]) in langsamem Strom in ein 1/50-n. Barytlauge überführen muß, um dann die überschüssige Lauge mit 1/50-n. Salzsäure zu titrieren.

Da also die bisher beschriebenen Mikromethoden gewisse Mängel aufweisen, haben wir eine neue Methode ausgearbeitet, die alle in Betracht kommenden Fehlerquellen sorgfältig berücksichtigt und als allgemein anwendbare exakte Mikromethode zur Bestimmung des Kohlenstoffs auf nassem Wege angesehen werden kann. Danach läßt sich in allen organischen Substanzen bei einer Einwaage von 2 bis 5 mg, entsprechend einem Kohlenstoffgehalt von 1 bis 3 mg, in einem einfach zu handhabenden Apparat bei kurzer Zeitdauer (rund eine Stunde) und geringem Reagenzienaufwand die Bestimmung mit einer Genauigkeit von mindestens 0.3% ausführen. Bei strenger Einhaltung der Arbeitsvorschriften beträgt die Fehlerabweichung meist nur 0,1 bis 0,2%.

Nach unserem Verfahren wird der Kohlenstoff der Substanz entsprechend den Beobachtungen und Feststellungen von SIMON, NICLOUX und BOIVIN[19]) in einem Gemisch von Silberbichromat und Kaliumbichromat in konzentrierter Schwefelsäure bei einer Tempe

[16]) L. LESCOEUR u. T. TUROBINSKI, Bull. Soc. Chim. biol., X., 603 (1928).

[17]) A. DESGREZ u. R. VIVARIO, Chem. Ztrbl., **1925**. I., 2325. C. r. d. l'Acad. des sciences, **180**, 886.

[18]) L. LESCOEUR u. S. MANJEAU, Die volumetrische Bestimmung der Kohlensäure. Bull. Soc. Chim. biol., X., 533 (1928).

[19]) loc. cit.

ratur von 130 bis 140° und einer Erhitzungsdauer von etwa 30 Minuten quantitativ vergast. Die Verbrennungsgase lassen wir zwecks völliger Oxydation des Kohlenoxyds und allenfalls abgespaltener Kohlenwasserstoffe über einen glühenden Platinstern im Sauerstoffstrom streichen, Mitgeführtes Halogen wird durch erhitzte Silberwolle, die sich vor und hinter dem Platin befindet, quantitativ zurückgehalten. Das Kohlendioxyd-Sauerstoffgemisch tritt durch einen Gasverteiler in 1/10-n. Barytlauge und wird dort dank seiner Aufteilung in feinste Bläschen quantitativ absorbiert. Die überschüssige Barytlauge wird dann nach dem Verfahren von Cl. Winkler, dessen Gültigkeit für die Bestimmung kleinster Kohlendioxydmengen in neuester Zeit von J. Lindner[20]) auf Grund sorgfältiger Untersuchungen festgestellt wurde, mit 1/20-n. Salzsäure und Phenolphthalein als Indikator titriert. Bezüglich der Grundlage der Titration verweisen wir auf die ausführlichen und in jeder Richtung erschöpfenden Mitteilungen Lindner's[21]). Die Titration erfolgt im Absorptionsgefäß selbst, ohne daß es geöffnet und ohne daß die Lauge umgefüllt werden müßte. Die ganze Bestimmung wird also von Anfang bis zu Ende in einem geschlossenen System durchgeführt. Schon Lindner[22]) hat das Problem, im selben Gefäße die Kohlensäure zu absorbieren und zu titrieren, in einer anderen, wie uns scheint, komplizierteren Weise gelöst. Das von ihm verwendete Gefäß zum Auffangen und Titrieren des Kohlendioxyds ist „etwa als eine Kombination einer modifizierten Pettenkofer'schen Absorptionsröhre mit einem Titrierkölbchen anzusehen", dessen Handhabung wohl Geschicklichkeit und Übung erfordern dürfte. Nach vielen Bemühungen fanden wir in den von Schott und Gen. (Jena) seit einiger Zeit in den Handel gebrachten kleinen Gasverteilungsrohren mit Glasfilterplatte von 1 cm Durchmesser ein Gerät, das eine ideale Gasverteilung bewirkt. Allerdings erwies sich die Filterplatte mit der feineren Porengröße „G 2" für unsere Zwecke als nicht brauchbar, weil sie beim Auftreten größerer Niederschlagsmengen unter den Druck-

[20]) Mikrochemie, Emich-Festschrift, S. 191 (1930).

[21]) Ztschr. analyt. Chem., **66**, 350 (1925); **72**, 135 (1927); **78**, 188 (1929); Ztschr. angew. Chem., **40**, 462 (1927).

[22]) Ztschr. analyt. Chem., **66**, 340 (1925).

verhältnissen in unserem System nicht mehr durchgängig war. Die nächst gröbere Filterplatte „G 1" lieferte schon so große Blasen, daß die quantitative Absorption der Kohlensäure gefährdet war. Durch Zusatz weniger Tropfen Äthylalkohol ändern sich die Verhältnisse jedoch infolge Herabsetzung der Oberflächenspannung derart günstig, daß auch bei Anwendung der gröberen Filterplatte „G 1" das Gas in feinste Bläschen aufgeteilt wird. Als günstigste Stellung der Filterplatte erwies sich die vertikale oder schwach zur Vertikalen geneigte; denn bei horizontaler Stellung gefährdet die Masse des entstehenden Niederschlages die Durchgängigkeit der Platte und bei nach unten gerichteter Platte können die austretenden Bläschen sich zu größeren Blasen vereinigen. Eine Alkaliabgabe seitens der Platte an die Barytlauge in der Kälte konnten wir bisher nicht feststellen. Auch die ganz geringe Menge von Maßflüssigkeit, die in die Filterporen etwa eindringt, verursacht keinen in Betracht kommenden Fehler und wird am Schluß der Titration infolge Diffusion ebenfalls erfaßt. Ein Eindringen von Lauge in das Innere des Gasverteilers ist unter den gegebenen Bedingungen unmöglich, da der Gasdruck auf die Filterplatte weit größer ist als der hydraulische Druck in den Kapillaren. Durch die feine Aufteilung des Gasstromes sind wir nicht mehr genötigt, ihn durch ein kompliziertes Röhrensystem zu leiten. Dadurch sind aber die Bedingungen geschaffen, in einem einfachen Absorptionsgefäß, das sowohl gekühlt als allenfalls auch erhitzt werden kann, zu titrieren. Das in der Kälte ausgefällte Bariumkarbonat ist feinflockig und schließt kein Hydroxyd ein. Wir titrieren daher die überschüssige Barytlauge mit der Salzsäure ebenfalls in der Kälte, zumal unsere Säure kohlensäurefrei bereitet ist. Wir beobachten auch beim Erhitzen im siedenden Wasserbad durch 10 Minuten nur ein praktisch nicht in Betracht kommendes Nachröten. Von der vollständigen Absorption des Kohlendioxyds unter unseren Versuchsbedingungen überzeugten wir uns durch Versuche mit reinstem Natriumcarbonat, das in einem einfachen Apparat mit Salzsäure zersetzt und durch einen Gasverteiler in die Barytlauge geleitet wurde. Acht Versuche mit Einwaagen von etwa 10 mg Na_2CO_3 ergaben relative Fehler zu 0,01 bis 0,11%.

Da die bisherigen Mikroverfahren zur Bestimmung des Kohlen-

stoffes durch nasse Verbrennung mit einem Blindwert arbeiten, der teilweise auf die Unreinheit der Reagenzien zurückzuführen war, waren wir bestrebt, ein Oxydationsgemisch herzustellen, das keine Spur von Kohlendioxyd liefert. Das Silberbichromat und Kaliumbichromat wurde bisher in Substanz verwendet und erst im Oxydationskölbchen in der konzentrierten Schwefelsäure gelöst. Unter diesen Umständen ist es nur sehr schwer möglich, den Blindwert aus der Schwefelsäure einerseits, aus den Chromaten anderseits zu entfernen. Wir stellten daher eine Oxydationssäure her, die die Chromatsalze in hoher Konzentration enthält und durch Erhitzen auf 130° vollständig kohlenstofffrei gemacht ist. Die oxydierende Wirkung wird durch diesen Reinigungsprozeß kaum herabgesetzt. Wir arbeiten also mit einem kohlenstofffreien Gemisch höchster Wirksamkeit.

Herstellung und Reinigung der Oxydationssäure.

Zu einem Gemisch von 20 g Silberbichromat[23]) und 10 g Kaliumbichromat gibt man in einem Jenaer Rundkolben, in den ein einfaches Gaseinleitungsrohr eingeschliffen ist, 200 ccm möglichst wasserfreie konzentrierte Schwefelsäure (D = 1,84) (Schwefelsäure mit einem Gehalt von mehr als 2% Wasser gewährleistet nicht mehr sicher die vollständige Zersetzung) und erhitzt

Abb. 2. (1/4 der natürlichen Größe.)

das Gemisch unter mehrmaligem Umschütteln eine Stunde auf 120 bis 130° (Thermometer im Ölbad). Gleichzeitig leitet man 600 ccm trockenen Sauerstoff aus einem Gasometer mit einer Geschwindigkeit von etwa 10 ccm in der Minute durch. Nach dem

[23]) Dargestellt nach W. Autenrieth, Ber., **35**, 2057 (1902).

Abkühlen auf 80° füllt man die dunkelbraune Oxydationssäure, die keinen stärkeren grünlichen Farbenton aufweisen darf, sofort in die staubsichere Flasche (Abb. 2) über. Die so behandelte Säure enthält in 1 ccm 150 mg Chromatsalze (100 mg $Ag_2Cr_2O_7$ und 50 mg $K_2Cr_2O_7$) gelöst und ist absolut kohlenstofffrei. Trotz der hohen Konzentration fällt kein Chromtrioxyd aus. Nur an den Schliffen und in den Kapillaren kristallisiert dieses manchmal in den bekannten roten Nadeln. Die Chromate bedürfen keiner besonderen vorherigen Reinigung, da alle kohlenstoffliefernden Stoffe aus den Reagenzien beim Reinigungsprozeß als CO_2 und CO entfernt werden. Wir haben übrigens auch eine Methode gefunden, Silberbichromat zu reinigen, indem wir gleiche Teile $Ag_2Cr_2O_7$ und $K_2Cr_2O_7$ zusammenschmelzen. Silberbichromat allein bildet nach dem Schmelzen einen Lack, der sich nicht mehr ohne weiteres aus dem Gefäß entfernen läßt.

Herstellung der Normallösungen.

1. 1/20-n. Salzsäure, die 3% Bariumchlorid enthält[24]): In einem Meßkolben von 500 ccm werden 15 g kristallisiertes Bariumchlorid in etwa 200 ccm ausgekochtem, kohlensäurefreiem, destilliertem Wasser gelöst, 250 ccm 1/10-n. Salzsäure zugegeben und dann mit dem ausgekochten Wasser nicht ganz bis zur Marke aufgefüllt. Die Säure wird nun mit Natriumcarbonat nach Sörensen, das zwei Stunden auf 260° erhitzt worden ist, in der Hitze mit Methylrot als Indikator gestellt und durch Wasserzusatz möglichst auf 1/20-Normalität gebracht.

2. 1/10-n. Barytlauge, die 1% Bariumchlorid enthält: 8 g reinstes, möglichst carbonatfreies kristallisiertes Bariumhydroxyd und 5 g kristallisiertes Bariumchlorid — beide Reagenzien sollen Mg-frei und möglichst Ca-arm sein[25]) — werden in einem Meßkolben von 500 ccm in ausgekochtem, kohlensäurefreiem, destilliertem Wasser gelöst und die Lösung darauf mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Sie ist stets mehr oder weniger durch Carbonat getrübt. Man läßt den Niederschlag absitzen und filtriert dann durch ein dichtes Filter direkt in das Standgefäß der Bürette. Damit die

[24]) Zur Frage der Menge des zuzusetzenden Bariumchlorids vgl. J. Lindner, Ztschr. f. analyt. Chem., **66**, 353 (1925).

[25]) Vgl. Lindner, Ztschr. f. analyt. Chem., **72**, 143 (1927).

abfiltrierende Lauge nicht mehr mit kohlensäurehaltiger Luft in Berührung kommt, ist die Bürettenflasche durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch dessen eine Bohrung das Trichterrohr, durch dessen andere ein Natronkalkrohr gesteckt ist. So erhält man eine absolut klare Barytlauge, die im geschlossenen Bürettensystem monatelang klar bleibt. Allenfalls auftretende Trübungen können von Silikaten des Glases herrühren; in solchen Fällen ist es geraten, die Flasche zu paraffinieren. (Über die Wirkung der Kieselsäure bei der maßanalytischen Bestimmung der Kohlensäure vergl. J. LINDNER, Ztschr. f. analyt. Chem. **72**, 145 (1927).) Die Stellung der Lauge erfolgt nach dem PREGL'schen Näherungsverfahren[26]) mit Hilfe der 1 20-n. Salzsäure sowohl mit Methylrot als auch mit Phenolphthalein im Absorptionsgefäß, nachdem man die Apparatur vollständig zusammengestellt hat. Den Gasverteiler G. V. (Abb. 3) ersetzt man dabei durch ein 4 cm langes Röhrchen, das gleich unterhalb des Gummistopfens mündet. Zur Durchlüftung leitet man etwa 40 ccm Sauerstoff durch den Apparat. Da die Säure praktisch kohlensäurefrei ist, müssen die Faktoren unter Verwendung von Methylrot einerseits, von Phenolphthalein anderseits annähernd übereinstimmen. Auf die Stellung der Normallösungen ist natürlich die größte Sorgfalt zu verwenden, weil sich der kleinste Fehler bei den Analysenresultaten erheblich auswirkt. Die verwendeten Büretten, die auf Vorratsflaschen montiert sind, sind bei einem Fassungsraum von 10 ccm in zwanzigstel Kubikzentimeter geteilt und mit automatischer Nullpunkteinstellung ausgestattet. Hundertstel Kubikzentimeter lassen sich leicht schätzen und gut entnehmen. Das Meßbereich hat eine Länge von etwa 40 cm. Gegen den Zutritt von kohlensäurehaltiger Luft sind sie durch Natronkalkröhrchen geschützt. (Vergl. FR. PREGL: Die quantitative organische Mikroanalyse, 3. Aufl., S. 126.)

Die Apparatur (Abb. 3)*).

Den für die Oxydation erforderlichen Sauerstoff entnimmt man einem Gasometer, der einen Gasdruck, entsprechend 5 bis 5,5 cm

[26]) Ztschr. analyt. Chem., **67**, 23 (1925).

*) Die vollständige Apparatur liefert in sorgfältiger Ausführung die Firma Paul Haack, Wien, IX., Garelligasse 4. (Ist gesetzlich geschützt und zum DRGM. angemeldet.)

Quecksilber aufweist. Falls der Sauerstoff nicht chemisch rein ist, leitet man ihn zuerst entweder über einen glühenden Platinstern oder durch das von F. Böck und K. Beaucourt[27]) angegebene, mit Platinasbest gefüllte und elektrisch auf 600° zu erhitzende Röhrchen, wodurch alle Verunreinigungen des Gases zu Kohlensäure und Wasser verbrannt werden. Der Gasstrom tritt dann in den Blasenzähler Bl mit dem U-Rohr von denselben Ausmaßen und mit der gleichen Füllung, wie er bei der Kohlenstoff-Wasserstoff-

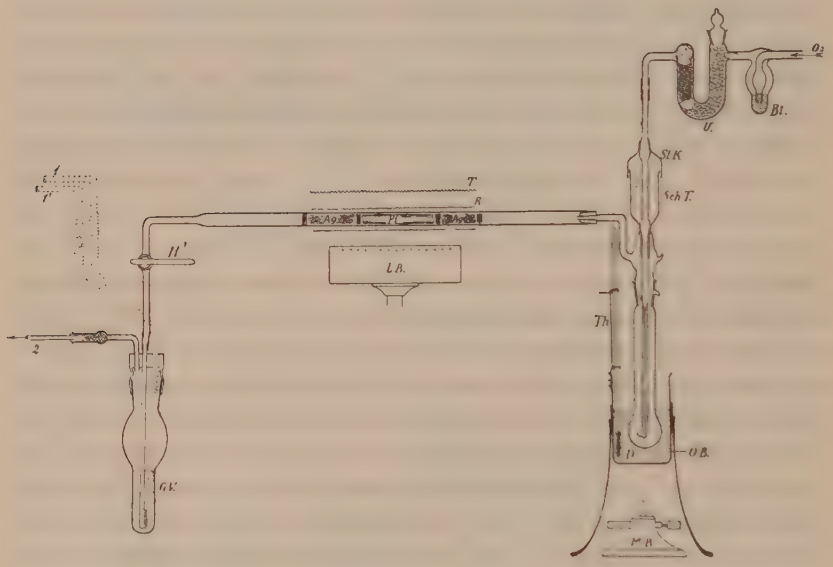


Abb. 3. (1/6 der natürlichen Größe.)

bestimmung nach Pregl in Verwendung steht, hierauf durch ein Gaseinleitungsrohr, dessen untere Hälfte kapillar verengt ist, in das Oxydationskölbchen. Dieses trägt einen Glasaufsatz mit Schliff, der sich nach oben zu dem sogenannten Schlifftrichter Sch'T mit einem Fassungsraum von etwa 6 bis 7 ccm erweitert. In diesen Schlifftrichter läßt sich das Gaseinleitungsrohr mittels eines Innenschliffes beweglich und unter Anwendung von konzentrierter Schwefelsäure auch gasdicht einsetzen. Um die in den Schlifftrichter ein-

[27]) Mikrochemie, **6**, 133 (1928).

zufüllende Oxydationssäure vor Staub zu schützen, ist am Gaseinleitungsrohr noch die bewegliche Staubkappe StK angebracht. Der Glasdorn D am Ende des Gaseinleitungsrohres dient dazu, um bei der Analyse von Flüssigkeiten die Glaskapillare zu zertrümmern. Allerdings muß dann ein etwas anders gebautes Oxydationskölbchen verwendet werden[28]). Aus dem Glasaufsatz führt das Gasableitungsrohr in das Verbrennungsrohr, das bei einem äußeren Durchmesser von 1 cm etwa 35 cm lang und an seinem Ende verengt und rechtwinkelig abgebogen ist. Der vertikale Schenkel trägt den Hahn H', in dessen Spindel von der Bohrung aus seichte Rillen eingeritzt sind.

In das Verbrennungsrohr ist bis in die Mitte ein 6 bis 7 cm langer Platinstern von der Form, wie er bei der Halogenbestimmung nach PREGL in Verwendung steht, eingeschoben und vor und hinter ihm zwei je 3 cm lange Schichten von Silberwolle oder Silberspiralen gelegt. Die Schichten sind gegeneinander und nach außen durch Platinasbest abgegrenzt*). Um den Platinstern und einen Teil des Silbers zu erhitzen, bedient man sich eines Langbrenners LB von 9 bis 10 cm Länge. Zur Schonung des Rohres wird über die Strecke, die erhitzt wird, ein Drahtnetzröllchen R geschoben und außerdem zwecks gleichmäßigen Erhitzens ein Drahtnetztunnel T auf den Brenner aufgesetzt. Statt der Gasheizung läßt sich natürlich auch die elektrische Widerstandsheizung anbringen. In den letzten Jahren sind für die Zwecke der Mikroelementaranalyse mehrere Ofenkonstruktionen angegeben worden[29]). Der Heizkörper soll bei einer Länge von etwa 10 cm zwecks größerer Beweglichkeit der Apparatur aufklappbar sein.

An den vertikalen Schenkel des Verbrennungsrohres, der einen Hahn H' mit verlängerter Hahnspindel trägt, wird mittels eines Schlauchstückes Glas an Glas der Gasverteiler GV angeschlossen (vergl. S. 373). Zu diesem Zwecke wird er vorher durch die mittlere der vier Bohrungen des Gummistopfens gesteckt, der

---

[28]) Über die Bestimmung des Kohlenstoffs in Flüssigkeiten wird später berichtet werden.

*) Zum Stopfen der Füllung von der Hahnseite her benützt man allenfalls einen dünnen Stahldraht, an dem eine kleine Kugel angeschmolzen ist.

[29]) Vgl. TH. WALZ, Ztschr. f. angew. Chem., **37**, 305 (1924); B. FLASCHENTRÄGER, Ztschr. f. angew. Chem., **41**, 840 (1928); Mikrochemie, **9**, 15 (1931).

zum Verschließen des Absorptionsgefäßes dient. Über diesen Gummistopfen ist eine dünne Gummimanschette*) gezogen, die 3 bis 4 cm über den unteren Rand vorragt und in die das Absorptionsgefäß gesteckt wird. Bei dieser Art der Befestigung läßt es sich bequem schütteln und auch drillen. Das aus Jenaer Geräteglas gefertigte Absorptionsgefäß von 12 cm Höhe und einem oberen Durchmesser von etwa 2,7 cm ist in der Mitte stark ausgebaucht. Das untere Drittel besitzt in einer Länge von 5 cm einen äußeren Durchmesser von 1,7 bis 1,8 cm, so daß sein Volumen bis zur bauchigen Erweiterung 8 ccm beträgt. Der Boden ist abgerundet. Der unterste Teil kann allenfalls wieder schwach erweitert sein. Die Gasableitung erfolgt durch ein rechtwinkelig gebogenes, durch den Gummistopfen zu steckendes Röhrchen, dessen horizontaler Schenkel zu einem Natronkalkröhrchen 2 erweitert ist. Dieses wird durch einen Schlauch mit der Mariotte'schen Flasche[30]) verbunden, deren Einleitungsrohr über dem Gummistopfen kugelartig erweitert sein muß. Durch diese Saugvorrichtung wird durch einen Schlauch mit der Mariotte'schen Fla- weitere Bohrungen im Gummistopfen dienen zum luftdichten Einstecken der Ausflußkapillaren 1 und 1′ aus den Büretten. Die Auslaufkapillaren sind durch Schlauchstücke mit der Bürette in Verbindung. Als Verschluß für den Auslauf der Salzsäure hat sich am besten ein Glashahn mit seichter Rille und verlängertem Griff bewährt, während für die Laugenbürette ein Quetschhahn vorteilhafter ist. Das Oxydationskölbchen wird im Ölbad ÖB, das mit Paraffinöl gefüllt ist, mittels des Mikrobrenners MB erhitzt.

Vorbereitung zum Versuche und Ausführung der Analyse.

Eichung des Blasenzählers: Nachdem man den Apparat zusammengestellt hat, stellt man bei ganz geöffnetem Gasometerhahn den Hahn H′ vor dem Absorptionsgefäß so ein, daß 2 ccm pro Minute aus der Mariotte'schen Flasche abfließen. Dabei

*) Am besten hat sich ein weiter Gummisauger (Schnuller) für Kindermilchflaschen bewährt, dessen engerer Teil weggeschnitten wird.

[30]) Vgl. Fr. Pregl, Die quantitative organ. Mikroanalyse, 3. Aufl. (Berlin 1930), S. 53.

senkt man den „Hebel" der Flasche so weit, daß die Höhendifferenz zwischen den beiden Austrittsöffnungen etwa 10 cm beträgt. Man zählt die Blasen, die in 30 Sekunden durch den Blasenzähler treten, und errechnet, wie viele Blasen 1 ccm pro Minute entsprechen. So ergibt die jeweils beobachtete Blasenzahl ein gutes Maß für die Geschwindigkeit.

Abb. 4. (1/4 der natürlichen Größe.)

Die Substanz, die 1 bis 3 mg Kohlenstoff enthält, wägt man in einem Wägeröhrchen mit langem Stiel (Abb. 4) ein und bringt sie dann auf den Grund des vollkommen trockenen Oxydationskölbchens. Den Gasverteiler GV, der nach jeder Bestimmung in verdünnte Salzsäure getaucht und dann mit destilliertem Wasser gründlich durchgespült werden muß, steckt man durch den Gummistopfen des Absorptionsgefäßes von unten her durch und verbindet ihn Glas an Glas mit dem vertikalen Anteil des Verbrennungsrohres durch ein Schlauchstück. Das mit destilliertem Wasser gereinigte Absorptionsgefäß beschickt man mit etwa zehn Tropfen neutralem Alkohol und 2 Tropfen 1%iger Phenolphthaleinlösung und schließt es an die Gummimanschette des Stopfens luftdicht an. Dann fügt man das Oxydationskölbchen mit der eingewogenen Substanz an Stelle des stets über dem Gaseinleitungsrohre zum Schutze vor Staub angebrachten Reservekölbchens, öffnet nun den Gasometerhahn völlig, den Hahn H′ soweit, daß etwa 6 ccm Gas pro Minute durchströmen, und entlüftet den ganzen Apparat mit etwa 40 ccm Sauerstoff. Gleichzeitig entzündet man den Langbrenner unter dem Verbrennungsrohr oder setzt den elektrischen Ofen in Tätigkeit und bringt den Platinstern auf schwache Rotglut. Dann drosselt man den Gasometerhahn stark ab, öffnet den Hahn H′ ganz und läßt durch Heben des Gaseinleitungsrohres 3 bis 4 ccm Oxydationssäure aus dem Schlifftrichter in das Kölbchen einfließen. Jetzt öffnet man den Gasometerhahn wieder völlig, drosselt H′ ab und bringt sofort etwa 8 ccm 1/10-n. Barytlauge aus der Bürette in das Absorptionsgefäß. Nun taucht man das Oxydationskölbchen in das Ölbad ÖB, das schon vorher auf eine

Temperatur von 70 bis 90° erhitzt worden war, nur soweit ein, daß das Flüssigkeitsniveau im Innern des Kölbchens mit dem des Ölbades übereinstimmt, um ein Zurücksteigen von Säure in die Einleitungskapillare zu verhindern. Jetzt stellt man den Hahn H' so ein, daß die Gasstromgeschwindigkeit 2 bis 2,5 ccm pro Minute beträgt. Dann bringt man die Temperatur des Ölbades in wenigen Minuten auf 130 bis 135° und hält sie mit Hilfe des Mikrobrenners MB konstant. Nach 5 bis 10 Minuten tritt die erste Trübung in der Barytlauge auf. Von diesem Zeitpunkte an läßt man noch wenigstens 100 ccm Sauerstoff durch das System strömen, die meistens genügen, um auch die letzten Spuren von Kohlendioxyd in das Absorptionsgefäß überzuführen. Bis zu dem Stadium, in welchem der Niederschlag sich bis zur käsigen Dicke angereichert hat, bedarf die Bestimmung keiner besonderen Überwachung. Daher kann man in dieser Zeit die Einwaage für den nächsten Versuch und die Reinigung eines zweiten Gasverteilers vornehmen. Wenn der größte Teil der Kohlensäure bereits absorbiert ist, steigert man, um ein Stocken des Gasstromes zu vermeiden, seine Geschwindigkeit auf 3 bis 3,5 ccm pro Minute. Bei einer Gasstromgeschwindigkeit von 4 ccm pro Minute beobachteten wir noch quantitative Absorption des CO_2. Die Kühlung des Absorptionsgefäßes mit kaltem Wasser ist ratsam, jedoch nicht unbedingt erforderlich.

Wenn 100 ccm Wasser aus der Mariotte'schen Flasche abgelaufen sind, läßt man bei gleicher oder noch besser bei etwas höherer Geschwindigkeit des Gasstromes (3,5 bis 4,5 ccm pro Minute) 1/20-n. Salzsäure in dünnem Strahl einlaufen, bis lokale Entfärbung an der Oberfläche auftritt, wartet gute Durchmischung ab, die durch den flotten Gasbläschenstrom besorgt und noch durch Heben und Drillen des Absorptionsgefäßes beschleunigt wird, fügt tropfenweise Säure zu, wartet wieder ein wenig und titriert bis blaßrosa zu Ende. Der Endpunkt der Titration ist dadurch gekennzeichnet, daß das nächste kleinste Tröpfchen Salzsäure (0,005 ccm) völlige Entfärbung bewirkt. Kleinste Tröpfchen lassen sich durch Heben des Absorptionsgefäßes von der Ausflußöffnung gut abnehmen. Wenn man darauf achtet, daß das Bariumcarbonat nicht etwa durch Konzentrationserhöhung der Säure angegriffen wird, wird man bei der Titration stets gute Resultate erhalten. Die Analyse

dauert vom Beginn der Durchlüftung bis zur Beendigung der Titration rund 60 Minuten.

Berechnung der Analyse.

1 ccm 1/20-n. Barytlauge entspricht 0,3 mg Kohlenstoff.

Da 1/10-n. Barytlauge vorgelegt und dann mit 1/20-n. Salzsäure zurücktitriert wird, multipliziert man die vorgelegten Kubikzentimeter Barytlauge mit 2 unter Berücksichtigung des Faktors der Lauge und subtrahiert davon die verbrauchten Kubikzentimeter 1/20-n. Salzsäure, ebenfalls nach Berücksichtigung des Säurefaktors.

$$\log \% \text{ C} = \log \text{ verbr. } 1/20\text{-n. Ba } (OH)_2 + \log 0{,}3 + (1 - \log \text{ Subst.})$$

Blindversuche.

Zur Prüfung der Reinheit der Oxydationssäure stellt man einen Blindversuch unter den früher angegebenen Versuchsbedingungen an, der den Wert von 0,03 ccm 1/20-n. Ba $(OH)_2$, entsprechend 0,009 mg Kohlenstoff nicht überschreiten darf. Bei vorschriftsmäßiger Herstellung der Säure und absolutem Reinhalten der Reagenzien und der Apparatur läßt sich der Blindwert stets unter die meßbare Grenze herabdrücken. Sollte sich dennoch ein höherer Blindwert zeigen, so ist meistens der Sauerstoff die Quelle der Kohlensäure. In solchen Fällen leitet man den Sauerstoff vor Eintritt in den Blasenzähler über glühendes Kupferoxyd oder Platin oder benützt den früher erwähnten, elektrisch zu heizenden Apparat nach Böck und Beaucourt. Auch der Alkohol, der zur Barytlauge ins Absorptionsgefäß zwecks Herabsetzung der Oberflächenspannung zugesetzt wird, kann eine Fehlerquelle bedeuten, falls er nicht neutral ist. Erhält man mit genau gestellten Normallösungen in Versuchen mit reinen Testsubstanzen zu niedrige Kohlenstoffwerte, mit Natriumcarbonat und Natriumoxalat jedoch richtige Werte, so ist der Fehler, einwandfreie Apparatur vorausgesetzt, in der Oxydationssäure zu suchen, sei es, daß die Schwefelsäure stärker wasserhaltig war, sei es, daß das Oxydationsgemisch beim Reinigungsprozeß überhitzt wurde (grünliche Verfärbung).

Die folgende Tabelle enthält die Analysenergebnisse der verschiedensten chemisch reinen, festen Substanzen.

Substanz	Einwaage mg	% C gef.	% C ber.	% C △
1. Acetylsalicylsäure	5,301	59,88	59,98	— 0,10
„	4,389	60,21	59,98	+ 0,23
„	3,608	60,10	59,98	+ 0,12
„	3,187	60,10	59,98	+ 0,12
„	2,879	60,18	59,98	+ 0,20
2. Alizarin	4,777	69,84	69,98	— 0,14
„	2,630	69,92	69,98	— 0,06
3. Anthracen	2,200	94,50	94,34	+ 0,16
4. Azobenzol	3,978	78,88	79,08	— 0,25
5. Bernsteinsäure	2,791	40,42	40,65	— 0,23
„	2,791	40,95	40,65	+ 0,30
6. Chlorbenzoesäure	4,238	53,67	53,71	+ 0,04
7. Cholesterin	3,221	84,04	83,86	+ 0,18
8. Dinitrotrichlorbenzol . . .	4,519	26,69	26,53	+ 0,16
9. Harnsäure	4,223	35,52	35,70	— 0,18
10. Morphin	1,744	67,26	67,31	+ 0,05
11. Na-Oxalat	4,022	18,12	17,91	+ 0,21
12. Perylen	2,214	95,34	95,20	+ 0,14
13. Sulfonal	2,846	36,89	36,80	+ 0,09
14. Vanillin	1,738	63,35	63,13	+ 0,22
15. Harnstoff	3,154	19,88	19,97	— 0,09

Über qualitative Mikroelektrolysen mittels kleiner Elektroden.

Von **Hans J. Brenneis.**

Aus dem Laboratorium für allgemeine Chemie der Technischen Hochschule in Graz.

(Eingelangt am 30 April 1931.)

I. Allgemeines.

Immer lebhafter erscheint in den letzten Jahren der Wunsch, kleinste Stoffmengen neben großen Mengen anderer Substanzen nachzuweisen und auch quantitativ zu erfassen. Dieser Arbeitsrichtung, welche mit dem Namen „Spurensuche“[1]) bezeichnet worden ist, eröffnen sich stets neue Aufgaben, besonders seit man die große Bedeutung der lange vernachlässigten geringen Beimengungen sowohl in anorganischen Stoffen als auch in den Organismen erkannt hat.

Im hiesigen Institute wurden in der letzten Zeit neue Erfahrungen bei der Spurensuche angestrebt, und zwar unter Heranziehung der Elektrolyse. Hauptsächlich zwei Gedanken fanden hierbei besondere Berücksichtigung; es sollten

1. durch Verkleinerung der Elektrodenfläche geringere Mengen erfaßt und eine bessere mikroskopische Beobachtung angestrebt werden, und

2. durch Vorbeiführen größerer Flüssigkeitsmengen an einer Elektrode gewissermaßen ein „auswählendes Filter“ geschaffen werden, wobei man sich, namentlich im zweiten Falle, für die Spurensuche Erfolg versprechen konnte[2]).

[1]) F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, Vorwort zur 2. Auflage, München 1926, S. V.

[2]) Versuche in dieser Hinsicht sind schon begonnen worden, doch sind sie mangels genügend reiner Reagenzien noch zu keinem befriedigenden Abschluß gelangt.

In der Literatur finden sich zahlreiche Angaben über die Erfassung kleiner Stoffmengen durch die Elektrolyse. Anordnungen, welche gleichzeitig die mikroskopische Beobachtung der elektrolytischen Abscheidungen gestatten, sind unter anderen von W. KAISER[3]), A. SCHAPER[4]), P. METZNER[5]) beschrieben worden. Außerdem seien noch einige Beispiele angeführt für die Abscheidung geringer Metallmengen auf feinen Drähten und nachfolgender Identifizierung durch chemische Reagenzien, z. B. Räuchern (L. CRESTI[6]), Überführung in gut definierte Kristallverbindungen und kolorimetrische Verfahren (R. LUCAS und FR. GRASSNER[7]) oder durch spektroskopische Aufnahmen (E. BAYLE und L. AMY[8]). H. P. KAUFMANN und M. KELLER[9]).

Bei fast allen derartigen Vorrichtungen und Arbeitsmethoden werden die Elektroden durch Drähte gebildet, die naturgemäß eine verhältnismäßig große Oberfläche besitzen; außerdem ist die Abscheidung auf Drähten insofern ungünstig, als man unter dem Mikroskop nicht den ganzen abgeschiedenen Niederschlag mit einem Male überblicken kann. Um die Elektroden so klein als möglich zu gestalten, war es daher naheliegend, den Querschnitt des Drahtes als wohldefinierte Abscheidungsfläche zu wählen und das nachzuweisende Metall auf diesen winzigen Elektrodenflächen zu sammeln; bei mikroskopischer Betrachtung werden die Abscheidungen als solche durch ihre Farbe identifiziert oder durch die Einwirkung entsprechender Reagenzien in charakteristische Verbindungen umgewandelt. Am günstigsten schien es uns, Versuche mit eben geschliffenen und polierten Wollastonelektroden[10]) anzustellen.

Wir wurden in unserer Annahme, daß auf diese Weise eine recht beträchtliche Empfindlichkeit zu erreichen sei, noch durch die Arbeiten über den Au-Gehalt im Meerwasser von F. HABER und seiner Schule[11]) bestärkt, die ja das Metall nach der Kupellation in Form von Au-Körnern unter dem Mikroskop ausmessen.

[3]) Sitzungsber. d. kaiserl. Akad. d. Wissensch., Wien, Mathem.-naturw. Klasse, **104**, Abt. III, 1895.

[4]) Zeitschr. wiss. Mikroskopie, **14**, 436 (1897).

[5]) Das Mikroskop, 2. Auflage, Leipzig und Wien 1928, S. 350.

[6]) B. **10**, 1099 (1877).

[7]) Mikrochemie, Emich-Festschrift, **1930**, 197.

[8]) Bull. Soc. chim. France (4), **43**, 604 (1928).

[9]) Chem. Umschau, Fette, Öle, Wachse, Harze, **37**, 49 (1930); durch Chem. Centralbl., **1930**, I, 2819.

[10]) H. BUFF, H. KOPP und F. ZAMMINER, Lehrbuch d. physikal. u. theoret. Chem., **1857**, S. 558; S. ARRHENIUS, Lehrbuch d. Elektrochemie, **1901**, 294; F. EMICH, Monatsh. Chem., **18**, 13 (1897); **22**, 678 (1901).

[11]) Zeitschr. d. Ges. f. Erdkunde zu Berlin, **1928**, Ergänzungsheft III, 1.

In diesem Zusammenhang schicken wir voraus, daß die Erfassungsgrenzen der hier speziell behandelten Metalle Cu, Ag, Au und Pb zwischen 0,0005 und 0,005 γ liegen.

Die Frage, ob durch die Elektrolyse die Abscheidung der Metalle aus dem Elektrolyten in einem solchen Maße erfolgt, daß sie selbst bei geringen Ionenkonzentrationen für die Spurensuche genügt, kann durch Berechnung mittels der NERNST'schen Formel gelöst werden, wobei wir auf A. CLASSEN[12]) hinweisen können. Die Konzentration, bis zu welcher man z. B. die Elektrolyse des Kupfers treiben kann, beträgt rund 10^{-20}, auch wenn, wie am Schlusse der Elektrolyse, der Elektrolyt normal sauer ist; das ist aber eine Konzentration, die weit außerhalb des Bereiches jeder qualitativen Nachweisbarkeit liegt.

Eine andere Frage ist die nach der Dicke jener elektrolytisch abgeschiedenen Kupferschichte, die wir unter den gewählten Arbeitsbedingungen an der rötlichen Kupferfarbe noch deutlich erkennen können. Die Abscheidung von 0,0005 γ Kupfer ist auf einer Platinelektrode mit 0,025 mm Durchmesser noch einwandfrei gelungen; wir berechnen nach A. EUCKEN[13]) den Durchmesser eines Kupferatoms mit $D = 2{,}27 \cdot 10^{-8}$ cm, und weiterhin, unter Berücksichtigung der zwei angeführten Werte, die Anzahl der Atomschichten mit ungefähr 500[14]), wobei wir diese Zahl keineswegs als einen definierten Wert ansehen, sondern sie nur anführen, um eine annähernde Vorstellung von der Größenordnung zu geben.

II. Formen, Art der Anwendung und Herstellung der Elektroden.

Für unsere Versuche verwenden wir hauptsächlich drei verschiedene Ausführungsformen der Elektroden:

1. Die Stabelektrode (Fig. 1):

Man schmelzt Pt- oder Pt-Jr-Drähte (A und B) von geeigneten Dimensionen derart in starkwandige Glaskapillaren (K) ein, daß die Drähte durch Glas voneinander isoliert sind, aber nur einen Abstand von z. B. $^1/_{10}$ mm aufweisen; die Glaskapillare besitzt 5 mm Außendurchmesser und 0,5 mm lichte Weite. Die Schmelzstelle wird durchschnitten, geschliffen und poliert, wobei die Platindrähte als winzige Scheibchen in der polierten Glasoberfläche eingebettet erscheinen. Die unten frei aus der Kapillare herausragenden Drahtenden verlötet man behufs bequemerer Verbindung mit Zuleitungsdrähten und befestigt diese Elektrode mit Picein in einer passenden Glasröhre (G). Die derart hergestellte Stabelek-

[12]) Quantitative Analyse durch Elektrolyse, VII. Auflage, Berlin 1927, S. 41.

[13]) Lehrbuch d. chem. Physik, III. Auflage, Leipzig 1930, S. 642.

[14]) In der vorläufigen Mitteilung wurde (Rechenfehler!) die Zahl 80 angegeben; siehe Anz. d. Akad. d. Wiss. Wien, Sitzung d. math.-naturw. Kl. v. 27. XI. 1930.

trode ist nun recht handlich und weniger gebrechlich als die Elektrode allein.

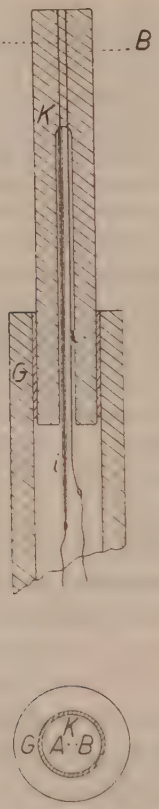


Fig. 1. Stabelektrode.

2. Die Nadelelektrode:

Beim Arbeiten mit geringen Substanzmengen und hochempfindlichen Nachweisverfahren ist bekanntlich darauf zu achten, daß alle Operationen nach Tunlichkeit in ein und demselben Gefäße durchgeführt werden, um Fehlerquellen, wie z. B. Staub, Unreinheiten, Adsorption an den Wänden usw., auszuschließen. Für die Elektrolyse in beliebigen Gefäßen (Tiegel, Platinschälchen usw.) entsprechen am besten die Nadelelektroden, die sich von den Stabelektroden nur durch eine dünnere Einschmelz-

kapillare, welche 1 mm Außendurchmesser nicht überschreiten soll, unterscheiden.

3. Der elektrolytische Objektträger:

Es bietet keine besonderen Schwierigkeiten, an Stelle zweier Platindrähte drei einzuschmelzen und so eine dreipolige Zelle herzustellen. Diese dreipoligen Elektroden haben wir auch als elektrolytische Objektträger ausgebildet, um Elektrolysen z. B. im hängenden Tropfen durchzuführen, wodurch ein Verdunsten des Tropfens bei längerer Elektrolysendauer verhindert wird; von Vorteil ist die dritte Elektrode besonders bei gleichzeitiger anodischer und kathodischer Abscheidung (Cu-Pb-Trennung), wobei sie natürlich nicht unter Spannung steht und nur als Vergleichsfläche dient. Fig. 2 stellt im Grund- und Aufriß einen solchen dreipoligen elektrolytischen Objektträger dar, der eine besonders handliche Form für das Arbeiten unter dem Mikroskop besitzt.

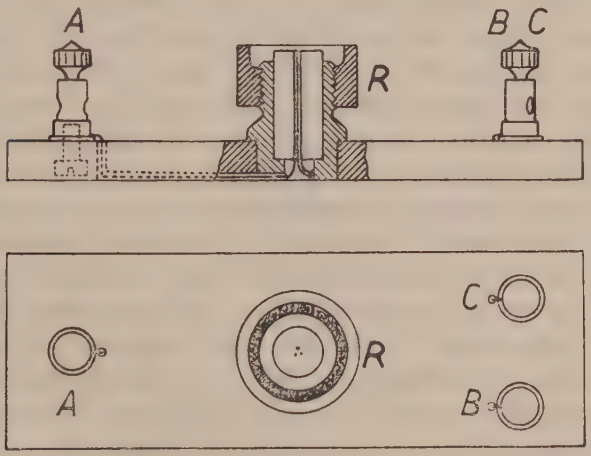


Fig. 2. Elektrolytischer Objektträger (ca. nat. Größe).

In eine Hartgummiplatte von der Größe eines englischen Objektträgers ist die dreipolige Elektrode mit Picein eingekittet; die drei Pole stehen mit den drei Klemmschrauben A, B und C in leitender Verbindung. Ein Hartgummiring R dient als Träger des

Deckgläschens und kann auf der Einfassung der Wollaston-Elektrode als Spindel durch Drehen um das Gewinde in der Höhe verstellt werden.

Die Durchmesser der verwendeten Platin-, bezw. Platiniridiumdrähte waren 0,1 mm, 0,05 mm und 0,025 mm.

Es seien noch einige Bemerkungen hinzugefügt, deren Beachtung bei der Selbstherstellung der Elektroden von Wichtigkeit ist. Die Isolierung der Drähte voneinander wird dadurch erreicht, daß man vor dem Einschmelzen bei zweipoligen Elektroden einen, bei dreipoligen zwei Drähte in sehr dünnwandige Glaskapillaren (vergleiche in Fig. 1, oben, i) einzieht, die natürlich aus derselben Glassorte sein müssen wie die starkwandige Einschmelzkapillare. Ferner müssen die Platindrähte und die Kapillaren peinlichst sauber sein (gründliches Waschen mit destilliertem Wasser und Alkohol), da geringe Spuren von Verunreinigungen beim Einschmelzen Blasenbildung hervorrufen[15]).

III. Das Arbeiten mit den Elektroden.

Im Prinzip ist die Arbeitsweise für alle abzuscheidenden Metalle dieselbe. Die zu prüfende Lösung, für deren passende Zusammensetzung[16]) natürlich zu sorgen ist, wird mittels einer geeichten Platinöse oder Glaskapillare[17]) in Form eines kleinen Tröpfchens (1 mm^3 bis 0,1 mm^3) auf die Elektrodenoberfläche aufgebracht; die Elektrode ist in der üblichen Art mit einem Akkumulator, einem Widerstand und einem Voltmeter verbunden. Das Metall scheidet sich auf der Kathode (oder Anode) ab und wird vorsichtig unter Stromschluß gewaschen, indem man mit einer feinen Glaskapillare mehrmals ein Tröpfchen Wasser aufsetzt, das mit einer anderen Kapillare oder einem Stückchen Filtrierpapier abgesaugt wird. Die Beobachtung der Abscheidung erfolgt entweder mittels eines Vertikalilluminators im gewöhnlichen Mikroskop oder im binokularen Mikroskop unter Verwendung einer guten, seitlich aufgestellten Tischlampe; im letzteren Falle ist ein entsprechendes Neigen der Elektrode oft zweckmäßig, so daß die polierte Fläche spiegelnd zu sehen ist.

---

[15]) Bezugsquelle für die Elektroden: Mechaniker Karl Schmitt, Graz, Lessingstraße 25.

[16]) Vorschriften z. B. in A. Classen, Quantitative Analyse d. Elektrolyse, VII. Aufl., Berlin 1927.

[17]) F. Emich, Lehrbuch d. Mikrochemie, II. Aufl., München 1926, S. 39 u. 40, oder Mikrochemisches Praktikum, II. Aufl., München 1931, S. 21.

Die Dauer der Elektrolyse richtet sich nach der Menge und dem elektrochemischen Verhalten des zu ermittelnden Stoffes; sie schwankt zwischen wenigen Sekunden und mehreren Stunden; ja, es wurde für die Leerversuche (die Reagenzien allein, ohne das betreffende Ion) bis 24 Stunden lang elektrolysiert. Bei diesen länger währenden Versuchen muß ein Verdunsten des Elektrolyten vermieden werden; ist die Lösung H_2SO_4-hältig, so genügt die Hygroskopizität der letzteren. Bei schwefelsäurefreien Elektrolyten bedient man sich einer feuchten Kammer (Fig. 3), das ist einer mit feuchtem Filtrierpapier (F) ausgekleideten Proberöhre (P), die über die Stabelektrode (W) gestülpt wird,

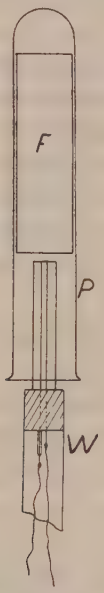


Fig. 3. Feuchte Kammer.

und die die Wasserdampftension um den zu elektrolysierenden Tropfen so erhöht, daß dieser nur sehr langsam eindunstet. Auf dem elektrolytischen Objektträger wird derselbe Effekt durch das Auflegen eines feuchten Deckgläschens auf die Fassung (R in Fig. 2) erzeugt, oder aber man dreht diese so weit herunter, daß das Deckgläschen den Probetropfen von oben berührt.

Ein Zerreißen des Probetropfens — die Folge davon ist

natürlich Unterbrechung der Elektrolyse — wird durch Auflegen eines kleines Glasstückchens zwischen die Elektroden vermieden.

Wenn die Abscheidung des betreffenden Ions auf einem anderen Metall als Platin zweckmäßiger ist, sei es wegen günstigerer Elektrolysenbedingungen oder wegen einer besseren Erkennung der Farbe, so wird die Elektrode mit diesem Metall durch eine vorhergehende Elektrolyse überzogen; wir machten z. B. gute Erfahrungen mit Au-, Ag- und Cu-Überzügen.

In den Fällen, in welchen die Färbung oder die Form der Metallabscheidung schon charakteristisch ist (Au, Cu, Hg) oder eine anodische Abscheidung erfolgt (Pb als PbO_2, Mn als MnO_2), reichen oft schon die äußeren Merkmale für die Erkennung des Ions aus; zur Identifizierung führt man, wenn möglich, noch spezielle Reaktionen aus. So kann z. B. Gold durch seine Unlöslichkeit in konzentrierter Salpetersäure vom leicht löslichen Kupfer unterschieden werden, wenn bei sehr dünnen Schichten die Entscheidung schwerfallen sollte; Silber wird durch Räuchern über Schwefelammon oder direktes Aufbringen desselben in schwarzes Ag_2S (Löslichkeit!) umgewandelt; bei etwas größeren Mengen ($> 0{,}01\,\gamma$ Ag) gelingt auch die Silberchromatreaktion[18]) (Rotfärbung) sehr hübsch.

Die Versuche mit verschiedenen anderen Ionen werden zurzeit noch fortgesetzt; so hat z. B. Herr E. P. Salzer Hg durch Räuchern mit Joddämpfen in das rote HgJ_2 (Prüfung auf Löslichkeit in KJ) übergeführt[19]) (Erfassungsgrenze: $0{,}05\,\gamma$ Hg); die Cd-Abscheidung wird auf der Elektrode in einem Tröpfchen Säure gelöst und mit der Sulfid-Reaktion auf einer Baumwollfaser[20]) identifiziert (Erfassungsgrenze: $0{,}01\,\gamma$ Cd); das Zn löst man ebenfalls von der Kathode ab und weist es mit Dithizon[21]) in neutraler Lösung in der Kapillare[22]) nach (Erfassungsgrenze: $0{,}001\,\gamma$ Zn).

[18]) Weber, Chem. Centralbl., **1860**, 320.

[19]) Vgl. z. B. auch A. Stock u. H. Lux, Zeitschr. angew. Chem., **44**, 200 (1931).

[20]) F. Emich, Lehrbuch der Mikrochemie, 2. Aufl., München 1926, S. 58.

[21]) H. Fischer, Mikrochemie, **VIII**, 319 (1930).

[22]) Durch vorsichtiges Arbeiten in der Kapillare kann die Erfassungsgrenze bis auf $0{,}001\,\gamma$ Zn heruntergedrückt werden; nach H. Fischer liegt die Erfassungsgrenze beim Arbeiten in der kleinen Proberöhre mit einem Tropfen ($\sim 0{,}05$ cm³) bei $0{,}025\,\gamma$ Zn.

IV. Bestimmung der Erfassungsgrenzen und einige Anwendungsbeispiele.

1. Ein Maß für die hohe Empfindlichkeit des Verfahrens ist uns durch die Bestimmung der Erfassungsgrenzen einiger Metalle gegeben; in der weiter unten angeführten Tabelle sind diese nebst den wichtigsten Versuchsdaten zusammengestellt.

Vorauszuschicken ist jedoch, daß die Elektroden aus Platindrähten von den drei angegebenen Durchmessern bestanden; die Oberflächen waren bezw. 0,008, 0,002 und 0,0005 mm^2. — Reagenzien: Da destilliertes Wasser kein unerhebliches Lösungsvermögen für Kupfer[23]) besitzt, wurde gewöhnlich destilliertes Wasser noch zweimal unter Verwendung eines Quarzkühlers destilliert; H_2SO_4 (d = 1.84) Merck pro analysi; HNO_3 (d = 1.4) reinst; KCN, Merck pro analysi. Die Metallösungen waren 1‰ an dem betreffenden Ion. Die zum Versuch angewendete Flüssigkeitsmenge betrug stets 0,1 mm^3. Die Beobachtung der Abscheidung erfolgte bei 30facher Vergrößerung. Natürlich sind bei allen Bestimmungen Leerversuche unter denselben Bedingungen angefügt worden, die die Reinheit der Reagenzien durch das Blankbleiben der Elektrodenflächen bewiesen.

2. Die niedrigen Erfassungsgrenzen lassen ein großes Anwendungsgebiet der elektrolytischen Spurensuche erhoffen; so wird es z. B. wohl keine Schwierigkeiten bieten, die quantitative Abscheidung von Metallen bei Mikroelektrolysen ohne praktisch ins Gewicht fallende Verluste in der Weise festzustellen, daß man eine feine Nadelelektrode in den Elektrolyten eintaucht, kurze Zeit elektrolysiert, abspült und mikroskopisch auf einen eventuell abgeschiedenen Beschlag des betreffenden Metalls prüft. Derart wäre es ohne praktisch in Betracht kommenden Substanzverlust möglich, in kurzer Zeit und einfach den Endpunkt der Elektrolyse zu ermitteln.

Um die Arbeitsweise zu charakterisieren, greifen wir aus den vielen möglichen Anwendungsbeispielen zwei Fälle heraus.

In den Arbeiten von C. W. Lindow, C. A. Elvehjem und W. H. Peterson[24]) über den Cu-Gehalt von pflanzlichen und tierischen Nahrungsmitteln findet sich die Angabe, daß 1 kg frische Kalbsleber im Durchschnitt 44,1 mg Cu enthält. Wir führten den Cu-Nachweis in Tierlebern in der Weise durch, daß wir ein Stückchen Rindsleber im Gewichte von wenigen mg auf einen Platindraht aufspießten und in der Bunsenflamme (eines Porzellan- oder Glasbrenners) veraschten. Aus der zurückbleibenden schwarzen, krustigen Masse lösten wir mit einem Tropfen konzentrierter Salpetersäure das Cu heraus, dampften die über-

[23]) P. Rây, Zeitschr. analyt. Chem., **79**, 94 (1930).

[24]) Journ. biol. Chem., **82**, 465 (1929); durch Chem. Centralbl., **1929**, II, 1087.

schüssige Säure auf einem „schmalen" Objektträger[25]) ab, nahmen mit Wasser auf und elektrolysierten nach Zusatz einer Spur Schwefelsäure auf dem elektrolytischen Objektträger. Der Cu-Nachweis gelang in dieser Weise immer einwandfrei, während entsprechend geführte Leerversuche (mit gereinigtem Asbest an Stelle der Leber) negativ ausfielen.

Von den Zigaretten der österreichischen Tabakregie wurden Heliane, Sphinx und Khedive auf den Belag des Mundstückes, bezw. den Aufdruck geprüft. Die Untersuchungen ergaben für Heliane echten Goldbelag, für Sphinx einen Belag aus einer Kupferlegierung und für Khedive Kupferaufdruck. Die Arbeitsweise gliederte sich wieder in das Veraschen der Probe, die Extraktion der Metalle und die elektrolytische Abscheidung auf den Elektroden. Eine Zigarette reichte natürlich für viele Versuche aus, da Bruchteile der Belegungen, bei Khedive ein Buchstabe der Markenbezeichnung, zur Bestimmung genügten. Leerversuche mit unbelegtem, bezw. unbedrucktem Papier derselben Zigarette bestätigten wieder die Brauchbarkeit des elektrolytischen Verfahrens.

Durch entsprechend weitgehende Verkleinerung der Elektrodenfläche[26]) und Ausnützung stärkerer Vergrößerungen bei der Beobachtung können sich sicherlich noch bedeutend bessere Leistungen als die hier angeführten erzielen lassen. Da man heute die Durchführung von Injektionen in einzelligen Gebilden nicht mehr zu den mit besonderen Schwierigkeiten verbundenen Operationen rechnet, müßte es schließlich vielleicht sogar möglich sein, mit Hilfe eines Mikromanipulators und entsprechend feiner Nadelelektroden Elektrolysen in einzelnen Zellen auszuführen.

Nachschrift.

Herrn Dr. Herbert Alber, der sich bei der Zusammenstellung der vorliegenden Abhandlung, die als Dissertation einen erheblich größeren Umfang besaß, bemüht hat, sei hierfür wärmstens gedankt.

Was die Benennung der Elektrode anlangt: es entspricht bisheriger Gepflogenheit, wenn ich den Namen „Brenneis-Elektrode" vorschlage, da Herr Brenneis die zum Teil recht mühsamen Versuche mit Eifer und Sachkenntnis ausgeführt hat.

F. Emich.

[25]) F. Emich, Mikrochemisches Praktikum, II. Auflage, München 1931, S. 15.
[26]) Hierüber sind Versuche im Gange.

	Kupfer				
	aus H_2SO_4-Lsg.			aus HNO_3-Lsg.	a
Spannung	2 Volt			2 3 Volt	
Dauer der Elektrolyse	15 bis 30 Minuten			15 bis 30 Minuten	
Identifizierung der Abscheidung	charakteristische Cu-Farbe, in HNO_3 löslich			charakteristische Cu-Farbe, in HNO_3 löslich	Umwa in
Anmerkung	elektrolytischer Objektträger			feuchte Kammer	fe
Elektrodendurchmesser in mm	0,1	0,05	0,025	0,025	0,1
Zusammensetzung des Elektrolyten in cm^3	$H_2SO_4 = 0{,}05$ $CuSO_4 = 0{,}25$ $H_2O = 9{,}70$	0,05 0,1 9,85	0,05 0,05 9,90	$HNO_3 = 0{,}1$ $CuSO_4 = 0{,}1$ $H_2O = 9{,}8$	$HNO_3 =$ $AgNO_3 =$ $C_2H_5OH =$ $H_2O =$
Erfassungsgrenze	0,0025 γ	0,001 γ	0,0005 γ	0,001 γ	0,005 γ

[1]) Die Dosierung erfolgt hier mit einer ausgemessener
auf dem Platin abscheidet und die Verwendung von Platin

[2]) Die Bleilösungen müssen immer frisch hergestellt
Woche gelang z. B. der Nachweis der Erfassungsgrenze nich
137, 307 (1928).

Über einen spezifischen Nachweis des Zirkons.

Von **F. Feigl, P. Krumholz** und **E. Rajmann.**

Aus dem II. chem. Universitätslaboratorium, Wien.

(Eingelangt am 7. März 1931)

Zirkonsalze liefern in sauren Lösungen mit Arsensäure sowie deren organischen Derivaten, z. B. mit der Phenylarsinsäure, schwer lösliche Salze, welche zum Nachweis und zur Bestimmung von Zirkon verwendet werden[1]). Die Farblosigkeit dieser Niederschläge gestattet es nicht, diese Nachweise in Form von Tüpfelreaktionen auf Filtrierpapier auszuführen.

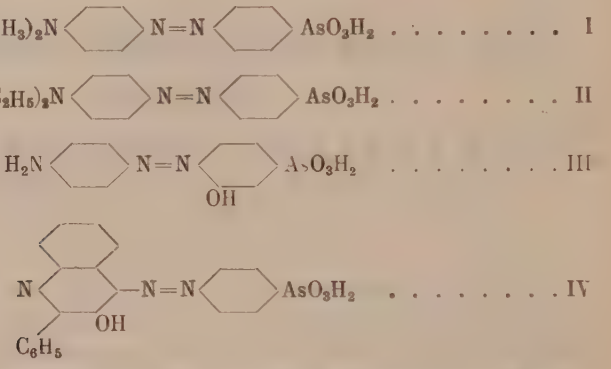
Der Erfahrung folgend, daß die spezifische Wirksamkeit eines Reagens häufig von der Anwesenheit einer bestimmten Atomgruppierung abhängt, und daß sich die Empfindlichkeit eines Nachweises durch Einführung beschwerender, bezw. farbgebender Gruppen innerhalb weiter Grenzen oft wesentlich verbessern läßt, versuchten wir, von der Phenylarsinsäure ausgehend, ein wirksameres Zirkonreagens zu finden.

Bei Einführung verschiedener Gruppen (NH_2, NO_2, Cl, OH, $NH\text{-}CO\text{-}CH_3$) in das Molekül der Phenylarsinsäure läßt sich keine wesentliche Erhöhung der Empfindlichkeit des Zirkonnachweises erzielen[2]). Hingegen gelingt es durch Einführung der farbgebenden Azogruppe, Abkömmlinge der Phenylarsinsäure darzustellen, welche eine sehr erwünschte Verbesserung der analytischen Wirksamkeit aufweisen. Die von uns untersuchten Azoarsinsäuren liefern in salzsaurer Lösung mit Zirkonsalzen schwer lösliche und

[1]) A. C. Rice, H. C. Fogg und C. James, I., Amer. chem. Soc., 48, 895 (1926). Vgl. auch F. Pavelka, Mikrochemie, **VIII**, 277 (1930).

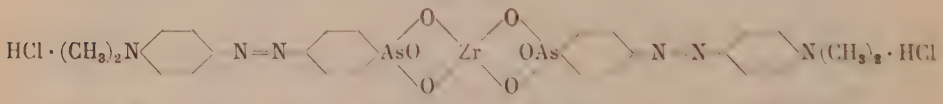
[2]) Nähere Angaben über 13 diesbezüglich untersuchte Arsinsäuren sind in der Dissertation von Herrn H. Kapulitzas (Wien 1930) enthalten.

zugleich farbige Niederschläge, deren Färbung sich von der des Reagens selbst unterscheidet. Dieser Umstand ermöglicht unter Einhaltung bestimmter Versuchsbedingungen einen spezifischen Nachweis von Zirkon in Form einer Tüpfelreaktion. Die nachstehenden Azoarsinsäuren[3])



welche infolge ihrer basischen Gruppe in Mineralsäuren löslich sind, liefern in salzsaurer Lösung selbst mit geringen Zirkonmengen amorphe, farbige Niederschläge.

Wir empfehlen zum Nachweis des Zirkons die leicht zugängliche p-Dimethylaminoazophenylarsinsäure (I) (Darstellung siehe später), deren säureunlösliches Salz[4])



beim Zusammenbringen einer sauren Probelösung mit einer salzsauren Lösung des Reagens entsteht. Als Eprouvettenreaktion besitzt dieser Zirkonnachweis eine Empfindlichkeit von 1 : 500.000 (in 5 ccm einer n-HCl-sauren Lösung). Da der Farbunterschied zwischen dem Zirkonsalz und dem Reagens in der Eprouvette nicht gut sichtbar ist, kann der positive Ausfall nur an der Bindung eines Niederschlages oder einer Trübung erkannt werden; letztere läßt sich leichter erkennen, wenn man mit $CHCl_3$ ausschüttelt. Da-

[3]) Einen Teil derselben hat uns Herr Prof. Dr. S. Berlingozzi-Neapel zur Verfügung gestellt, dem wir auch an dieser Stelle danken.

[4]) Versuche, die Zirkonverbindung als Wägungsform zu verwenden, sind im Gange.

gegen bietet die Ausführung des Nachweises als Tüpfelreaktion eine bequemere Möglichkeit, diesen Farbunterschied auszuwerten, wodurch die Erkennung selbst sehr geringer Zirkonmengen ermöglicht wird.

Zur Ausführung des Nachweises in Form einer Tüpfelreaktion wird ein Tropfen der sauren Probelösung auf ein mit einer Lösung von 0,1 g des Reagens in 5 ccm konz. Salzsäure und 100 ccm Alkohol imprägniertes und getrocknetes Filtrierpapier (Schleicher und Schüll, Schwarzband Nr. 589) gebracht.

Bei größeren Zirkonmengen entsteht sofort ein brauner Fleck. Durch kurzes Baden des Papiers in 2 n-Salzsäure von 50 bis 60° kann das Reagens aus dem Papier schnell entfernt werden, während der braune Zirkonfleck oder -ring (bei höherer Azidität der Probelösung) nun deutlich sichtbar wird.

Erfassungsgrenze: 0,1 γ Zr
Grenzkonzentration 1 : 500.000 } in 1 n-HCl.

Schwefelsäure bewirkt erst in Konzentration über einfach normal eine merkliche Verringerung der Empfindlichkeit, offenbar infolge der Bildung komplexer Zirkonschwefelsäuren. Phosphate, Fluoride sowie organische Säuren, welche mit Zirkon stabile Komplexe liefern, verhindern die Reaktion.

Erdalkali, Alkali, Al-, Zn-, Co-, Ni-, Cr-, Mn-, Hg-, Bi-, Cd-, Cu-, Pb-, Tl-, Ag-, Pt- (IV), Pd- (II), Ce- (III), U-, La-, Pr-, Nd-, Y-Salze liefern in 0,5—1%iger normal salz-, bezw. salpetersaurer Lösung keine Reaktion. Ferrisalze liefern in konzentrierteren Lösungen eine Braunfärbung, welche jedoch im HCl-Bad sofort verschwindet und den Zirkonnachweis nicht beeinträchtigt. Antimon-(V)salze liefern eine dem Zirkon ähnliche Braunfärbung, welche jedoch erst nach etwas längerem Baden in der warmen Salzsäure verschwindet. Bei Anwesenheit von Antimon (V) muß das Papier daher 2 bis 3 Minuten in der Säure belassen werden. Es können so 0,25 γ Zirkon neben der 1000fachen Antimonmenge erkannt werden. Antimon(III)salze liefern einen schwach gefärbten Fleck, der im HCl-Bad sofort verschwindet.

Thoriumsalze liefern eine dem Zirkon analoge Reaktion, der erzeugte Fleck verschwindet aber sofort im HCl-Bad. Es kann

leicht 0,2 Zirkon neben der 2500fachen Menge Thorium nachgewiesen werden.

Goldsalze geben in konzentrierteren Lösungen einen im HCl-Bad ebenfalls sofort verschwindenden violetten Fleck.

Molybdate, Wolframate, Zinn- (IV), Titansalze liefern mit der p-Dimethylaminoazophenylarsinsäure braun bis rot gefärbte Niederschläge, welche säurebeständig und von noch nicht ermittelter Zusammensetzung sind. Die Störung des Zirkonnachweises durch diese Ionen kann jedoch, wie nachstehend gezeigt wird, leicht ausgeschaltet werden. Tantalsäure, welche eine dem Zirkon analoge Reaktion liefert, beeinträchtigt als einziges der untersuchten Metalle den Zirkonnachweis.

Nachweis des Zirkons neben Molybdän und Wolfram.

Molybdate und Wolframate liefern beim Tüpfeln auf dem Reaktionspapier einen rotbraunen Fleck, welcher im Säurebad nicht verschwindet.

Durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd gelingt es nun, diese beiden Säuren in die entsprechenden Persäuren überzuführen, welche keine oder nur eine geringfügige Reaktion mit der Azoarsinsäure geben.

Zur Ausführung des Nachweises werden 3 Tropfen der Probelösung, welche nicht mehr als 1% Molybdän oder 0,5% Wolfram[5]) enthalten sollen, in der Vertiefung einer Tüpfelplatte mit je einem Tropfen konzentrierter Salzsäure und 30%igem Wasserstoffsuperoxyd vermischt und ein Tropfen der Mischung auf das Reagenspapier gebracht. Beim Einbringen des Papiers in das warme Säurebad erscheint in der Mitte des Tüpfelkreises ein roter Fleck, welcher nach kurzem Baden verschwindet. War Zirkon zugegen, dann erscheint um den Fleck ein brauner Ring des Zirkonsalzes. Gleichzeitig bleibt bei Anwesenheit von Wolfram (zum geringeren Teil auch beim Molybdän) der innere Fleck auch nach längerem Baden in Salzsäure bestehen. Offenbar bewirkt das Zirkon eine in-

[5]) Bei Anwesenheit größerer Wolframmengen darf die auf Säurezusatz ausfallende Wolframsäure nicht abfiltriert werden, da diese die Hauptmenge des Zirkons mitreißt. Es muß daher die Lösung samt der darin suspendierten Wolframsäure mit Wasserstoffsuperoxyd versetzt werden.

duzierte Fällung der Molybdat-, bezw. Wolframatverbindung. Die gleichzeitige Bildung eines säurebeständigen braunen Ringes und zentralen roten Fleckes erlaubt es, geringe Zirkonmengen neben viel Wolfram und Molybdän eindeutig zu erkennen[6]).

Grenzkonzentration 1 : 100.000
Erfassungsgrenze 0,5 γ Zirkon
} neben der 1000fachen Molybdän-, bezw. der 500fachen Wolframmenge.

Ist die Molybdän-, bezw. Wolframkonzentration nur gering, so entsteht lediglich der braune Zirkonring.

Nachweis des Zirkons neben Titan und Cer (IV).

Titansalze lassen sich ebenso wie Molybdate und Wolframate mit Hilfe von Wasserstoffsuperoxyd in mit der Dimethylaminoazophenylarsinsäure nicht mehr reagierende Pertitansäure überführen.

Zum Nachweis von Zirkon neben Titan werden drei Tropfen der Probelösung mit je einem Tropfen konz. Salzsäure und 30% Wasserstoffsuperoxyd vermischt, ein Tropfen auf das Reagenspapier gebracht und kurze Zeit in der warmen Salzsäure gebadet. An der Bildung eines braunen Ringes können noch 1 γ Zirkon (Erfassungsgrenze 1 : 50.000) neben der 500fachen Menge Titan eindeutig erkannt werden.

Cerisalze zerstören das Reagens unter Gelbfärbung; durch Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd können dieselben jedoch leicht zu Cerosalzen reduziert werden.

Nachweis des Zirkons neben Zinn (IV).

Zinn- (IV) Salze liefern mit der Azoarsinsäure einen braunen Niederschlag, welcher jedoch bei nicht zu hoher Zinnkonzentration und höherer Säurekonzentration nicht entsteht.

Zur Ausführung des Nachweises werden 3 Tropfen der Probelösung, welche höchstens 0,1% Sn enthalten sollen, in der Höhlung der Tüpfelplatte mit 1 Tropfen konzentrierter Salzsäure versetzt und die Mischung auf das Reagenspapier gebracht. Nach

[6]) Entsprechend einer stärkeren Induktion der Wolframatfällung erscheint bei Anwesenheit von Wolfram ein intensiver Zentralkreis und ein schwacher Zirkonring, bei Anwesenheit von Molybdän ist das Verkehrte der Fall.

kurzem Baden in der warmen Salzsäure hinterbleibt höchstens ein ganz schwacher roter Fleck. Bei Anwesenheit von Zirkon erscheint ein mehr oder minder intensiver brauner Fleck oder Ring.

Erfassungsgrenze: 0,2 γ Zr
Grenzkonzentration: 1 : 250.000
} neben der 250fachen Zinnmenge.

Darstellung von p-Dimethylaminoazophenylarsinsäure.

22 g Arsanilsäure werden in 200 ccm Salzsäure 1 : 10 gelöst, mit der berechneten Menge Natriumnitrit diazotiert und mit einer Lösung von 12 g Dimethylanilin in 2 n-Salzsäure versetzt. Nach einstündigem Stehen unter Eiskühlung wird mit Natriumazetat abgestumpft und der Niederschlag aus heißer 2 n-Salzsäure umkristallisiert.

Ausbeute 20 bis 25 g des Hydrochlorids.

Die mikroanalytische Bestimmung des Platins in Legierungen.

Von **R. Strebinger** und **H. Holzer.**

Aus dem Laboratorium für Mikroanalyse, Technische Hochschule Wien.

(Eingelangt am 4. März 1931.)

Zur Ermittlung des Feingehaltes an Gold oder Platin in Edelmetallegierungen wird in der Praxis fast allgemein die Strichmethode, zu genaueren Bestimmungen das dokimastische Verfahren angewendet, nur in Ausnahmsfällen werden gravimetrische Bestimmungsmethoden herangezogen. Solange es sich um Edelmetallegierungen von einfacherem Typus handelt, konnte mit diesen beiden Methoden das Auslangen gefunden werden, wobei allerdings auch nur bei großer praktischer Erfahrung und Übung befriedigende Ergebnisse erzielt werden. Wesentlich geändert wurde die Sachlage, als nicht mehr Silber und Kupfer allein als Beilegierung in Betracht kamen, sondern noch die verschiedensten anderen Metalle. Besondere Schwierigkeiten zeigten sich bei palladiumhältigen Platinlegierungen.

In einer früheren Arbeit[1]) konnten wir auf die ausgezeichnete Verwendbarkeit von Mikromethoden zur qualitativen Untersuchung derartiger Legierungen hinweisen. Da auch für die quantitative Analyse (Feingehalt) kurze Arbeitsdauer und geringer Materialverbrauch unter möglichster Schonung des Untersuchungsmaterials (Schmuckgegenstände) als Bedingung für die praktische Verwendbarkeit einer derartigen Methode gestellt war, haben wir in erster Linie nach einer brauchbaren mikroanalytischen Bestimmungsform gesucht. Die zahlreichen günstigen Ergebnisse, die der eine von uns (St) seit vielen Jahren bei der Analyse von antiken

[1]) R. Strebinger und H. Holzer, Zur Anwendung der Mikroanalyse im Punzierungswesen, Mikrochemie, VIII, 264 (1930).

Gold- und Silberlegierungen (Münzen, Grabschmuck u. dgl. m.) erzielen konnte, ließen hoffen, auch den Platingehalt von Edelmetallegierungen mikrochemisch in einfacher Weise ermitteln zu können. Nach vielen Versuchen hat sich die Abscheidung als K_2PtCl_6 am zweckmäßigsten erwiesen[2]). Die von G. Lunde[3]) beschriebene mikrodokimastische Methode zur Bestimmung des Platins in Gesteinen konnte für unsere Zwecke nicht zur Verwendung kommen.

Bestimmung des Platins in reinen Lösungen.

A. Herstellung einer Platintiterlösung.

Eine Platinlösung von bekanntem Gehalte wird zweckmäßig durch Lösen einer genau gewogenen Menge von reinem K_2PtCl_6 bereitet. Selbstverständlich muß bei der Herstellung dieses Salzes möglichst sorgfältig vorgegangen werden. Das Salz wurde wie folgt hergestellt.

Käufliches Platinchlorid wird in einer Schale in Wasser gelöst, mit Kaliumchlorid eingedampft, der Kristallbrei wird abfiltriert und mit 96%igem Alkohol gewaschen. Hierauf löst man ihn in heißem Wasser und wiederholt obigen Vorgang unter geringem Zusatz von Kaliumchlorid zwei- bis dreimal. Schließlich wird die Lösung bis zur beginnenden Kristallisation am Wasserbad eingedampft, mit 50%igem Alkohol übergossen und der Kristallisation überlassen. Die überstehende Mutterlauge wird abgegossen, worauf man den Kristallbrei einige Male mit 96%igem Alkohol digeriert. Endlich trocknet man die Kristalle im Vakuumexsikator durch 24 Stunden über konzentrierter Schwefelsäure. Nach dieser Vorschrift ist es möglich, gut ausgebildete, hellgelbe Kristalle von K_2PtCl_6 zu erhalten. Durch Einwägen des trockenen Kristallpulvers und Lösen in einem Meßkolben wird hierauf die Titerlösung bereitet.

Bevor man jedoch zur Titerbereitung schreitet, ist es vorteilhaft, das Kristallmaterial auf Reinheit zu prüfen. Zu diesem Zweck wird etwas vom Kristallpulver im Mikro-Neubauer-Tiegel eingewogen und der bedeckte Tiegel bei zirka 1200° durch 20 Mi-

[2]) Vgl. R. Strebinger, Österr. Chem.-Ztg., 8 (1918).

[3]) G. Lunde, Mikrochemie, V, 16, 102 (1927).

nuten im elektrischen Ofen zur Zersetzung des K_2PtCl_6 geglüht, hierauf mit verdünnter Essigsäure ausgewaschen und nach abermaligem Glühen das zurückgebliebene Platin gewogen.

Einwaage	K_2PtCl_6	Pt		
		berechnet	gefunden	
I	4,169 mg	1,674	1,681	$\triangle + 0{,}007$
II	1,015 mg	0,407	0,402	$\triangle - 0{,}005$

Wie ersichtlich, wies unser Ausgangsmaterial zur Titerbereitung einen zufriedenstellenden Reinheitsgrad auf.

B. Titerbestimmung.

Eingewogen wurden 390.529 mg K_2PtCl_6 und auf 250 ccm mit Wasser verdünnt. Es entspricht dies 1,562 mg $K_2PtCl_6 =$ $= 0{,}627$ mg Pt im ccm.

Zur Kontrolle der Einwaage und der Richtigkeit der verwendeten Meßgefäße wurden 2 ccm der Titerlösung in einer gewogenen Glasschale am Wasserbad eingedampft und das Gewicht des Abdampfrückstandes durch Differenzwägung ermittelt. Die Glasschale wurde nicht direkt, sondern über ein Stückchen Seidengaze in dem Wasserbadring eingesetzt.

Titerlösung

K_2PtCl_6	gefunden	
3,124 mg	3,130 mg	$\triangle + 0{,}006$
3,124 mg	3 127 mg	$\triangle + 0{,}003$

1. Bestimmung durch Wägung als K_2PtCl_6.

Die Lösung wird mit einem Tropfen Salzsäure angesäuert und, um die gleichen Bedingungen wie bei der späteren Analyse der Legierung einzuhalten, mit einem Überschuß von Kaliumchlorid zur Trockne eingedampft. Hernach mit 96%igem Alkohol aufgenommen, in ein PREGL'sches Filterröhrchen filtriert, mit Alkohol nachgewaschen, bei 130 bis 150° getrocknet und schließlich ausgewogen. Da der Niederschlag von K_2PtCl_6 sehr fest an den Wän-

den der Eindampfschale haftet, arbeiten wir mit einem Überschuß von Kaliumchlorid, welches infolge seiner Löslichkeit in Alkohol eine Auflockerung des Platindoppelsalzniederschlages hervorruft. Allerdings darf der Überschuß nicht zu groß gewählt werden, da sonst die quantitative Entfernung des Kaliumchlorids große Schwierigkeiten verursacht.

Wir verwenden Eindampfschalen von halbkugeliger Gestalt, die an ihrer tiefsten Stelle mit einer kleinen Ausstülpung versehen sind. Der Durchmesser der Ausbuchtung wird so gewählt, daß zwischen der Schalenwand und Kapillarheber ein Zwischenraum von zirka einem halben bis einem Millimeter bleibt.

Der Vorteil dieser „Fällungsschälchen" (Fig. 1) be-

Fig. 1.

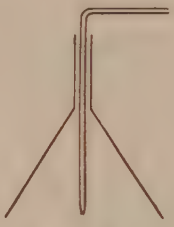


Fig. 3.

steht darin, daß sich der Niederschlag in einem möglichst kleinen Raum der Ausbuchtung sammelt. Nach Einsetzen des Hebers erreichen wir durch diese Anordnung einen raschen und tadellosen Transport des Niederschlags in das jeweilige Wägegefäß.

K_2PtCl_6 berechnet	K_2PtCl_6 gefunden	$\triangle$ K_2PtCl_6
6,248	6,277	+ 0,029
4,686	4,676	— 0,010
4,686	4,730	+ 0,044
4,686	4,648	— 0,038

Vorstehende Resultate zeigen, daß diese Bestimmungsmethode auf keine besondere Genauigkeit Anspruch erheben kann. Sie ist mit einer Reihe von Fehlerquellen behaftet, die sehr schwer vermieden werden können. Wie schon oben gesagt, ist es schwierig, das überschüssige Kaliumchlorid quantitativ zu entfernen. Es

sind zu diesem Zwecke große Mengen Waschflüssigkeit notwendig, die ihrerseits K_2PtCl_6 in Lösung bringen. Durch Sättigen der Waschflüssigkeit mit Kaliumchlorid konnten wir die Löslichkeit von K_2PtCl_6 herabmindern, doch vergrößert sich dadurch die Schwierigkeit der Entfernung des Kaliumchlorids bedeutend. Schließlich dürfte auch ein Fehler in einer chemischen Veränderung des Komplexes liegen, und zwar teils in der bekannten Eigenschaft dieser Verbindung, Chlor gegen OH-Gruppen[4]) auszutauschen, zum größeren Teil aber in einer partiellen Reduktion des Komplexes, durch den Aldehydgehalt des Alkohols hervorgerufen, die daran eine größere Löslichkeit des Niederschlages in der Waschflüssigkeit bedingt, eine Annahme, die bei der kolorimetrischen Bestimmung näher erläutert werden soll[5]). Zusammenfassend können wir sagen, daß auf Grund der vorstehend angeführten Fehler diese Bestimmungsform als wenig verläßlich anzusprechen ist.

2. Bestimmung durch Auswägung des Pt-Metalles.

Wir waren deshalb bestrebt, die möglichen Fehler tunlichst zu umgehen, indem wir den Niederschlag in einem Mikro-Neubauer-Tiegel filtrieren und das Doppelsalz durch Glühen im elektrischen Ofen bei zirka 1200° zersetzen, das zurückgebliebene KCl durch Waschen mit essigsäurehältigem Wasser entfernen, wieder glühen und den Tiegel zur Wägung bringen. Wie schon vorhin erwähnt, fanden wir, daß der käufliche Alkohol die chemische Zusammensetzung des Komplexes durch Reduktion verändert. Als Ursache dieser Reduktionserscheinungen, die sich bei dieser Bestimmung dann in einer größeren Löslichkeit des Niederschlages auswirkt, fanden wir den Aldehydgehalt des Alkohols. Wir sahen uns deshalb genötigt, unsere Versuche mit aldehydfreiem Alkohol durchzuführen. Um Alkohol aldehydfrei zu machen[6]), versetzt man ihn mit Silberoxyd und läßt ihn mehrere Tage bei öfterem Umschütteln im Dunkeln stehen. Hierauf wird er nach Entfernen des Metall-Oxydgemisches am Wasserbad abdestilliert. Ein auf

[4]) Miolatti, Ztschr. analyt. Chem., 22, 445 (1900).

[5]) Siehe Seite 410.

[6]) Abderhalden, Abteil. I., Chem. Methoden, 4. Verlag Urban u. Schwarzenberg, Leipzig 1924.

diese Art gereinigter Alkohol wurde zu allen Bestimmungen, die in dieser Arbeit angegeben sind, verwendet. Um die Löslichkeit des K_2PtCl_6 im Alkohol zu verringern, sättigen wir ihn mit Kaliumchlorid, aber auch dann konnten wir zu keinen befriedigenden Ergebnissen gelangen. Nach GMELIN-KRAUT[7]) lösen sowohl absoluter als auch 97% Alkohol Kaliumplatinchlorid in Mengen, die bei einem größeren Volumen Waschflüssigkeit die Analyse schon störend beeinflußen. Da nun bei Mikrobestimmungen mit einer 10- bis 20mal größeren Menge an Waschflüssigkeit (im Vergleich zum Niederschlag) gerechnet werden muß als bei der Makroanalyse, fallen diese Fehler bedeutend ins Gewicht. Unsere ersten Resultate waren deshalb auch alle zu niedrig.

Pt berechnet	Pt gefunden	△
2,509	2,443	— 0,066
2,509	2,443	— 0,066

Es erschien daher notwendig, die Menge des Waschmittels zu verringern, da wir aber zu einer quantitativen Überführung des Niederschlages in das jeweilige Wägegefäß mindestens 10 ccm Waschflüssigkeit benötigen, blieb uns nur eine Möglichkeit, dem Alkohol eine Flüssigkeit zuzusetzen, in welcher das K_2PtCl_6 praktisch unlöslich ist. Als solche erwies sich der Äthyläther, den wir dem Alkohol im Verhältnis 1 : 1 beimischen, überdies sättigen wir das Gemisch mit Kaliumchlorid. Bei Anwendung dieses Waschmittels konnten wir tadellose Resultate erzielen.

Pt berechnet	Pt gefunden	△
2,509	2,506	— 0,003
2,509	2,507	— 0,002

Selbstverständlich ist es notwendig, alle Operationen in einer ammoniakfreien Atmosphäre durchzuführen, da das sich bildende

[7]) GMELIN-KRAUT, V. III, 775. Verlag C. Winter, Heidelberg 1915.

Ammonsalz der Platinchlorwasserstoffsäure die Resultate ungünstig beeinflußt.

Bei der Zersetzung des Niederschlages im Platintiegel ist entsprechende Vorsicht am Platze. Um ein Wegschleudern der Kristalle zu vermeiden, ist es vorteilhaft, den Tiegel vor dem Einsetzen in den elektrischen Ofen bei zirka 100° vorzutrocknen. Der Tiegel wird hierauf mit einem Platindeckel bedeckt, in einen kleinen Porzellantiegel gestellt und in den elektrischen Ofen gebracht. Der Ofen wird langsam angeheizt und zirka 20 Minuten auf einer Temperatur von 1200 bis 1400° gehalten. Das Einhalten dieser Temperatur ist unbedingt notwendig, da sonst keine vollständige Zersetzung des Doppelsalzes eintritt, um so mehr, wenn bei der Fällung ein zu großer Überschuß an Kaliumchlorid verwendet wurde, welches in geschmolzenem Zustand die K_2PtCl_6-Kristalle löst und so ihre vollständige Zersetzung verhindert[8]). Es ist in diesem Falle notwendig, das Glühen solange fortzusetzen, bis das überschüssige und bei der Zersetzung des Komplexes entstandene Kaliumchlorid verdampft ist. Hält man diese Vorsichtsmaßregel nicht ein, so wird natürlich beim Auswaschen auch das noch vorhandene K_2PtCl_6 mit dem Kaliumchlorid weggewaschen, wodurch zu niedrige Resultate bedingt sind. Nach Beendigung der Zersetzung wird der Tiegel aus dem Ofen gehoben, abgekühlt, mit heißem Wasser, welches mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuert wurde, vorsichtig ausgewaschen, ebenso wie die Innenseite des Deckels, um eventuell abgeschleudertes Platin mit dem Tiegelinhalt zu vereinigen. Nach dem Waschen wird der Tiegel langsam vorgetrocknet, um ein Abschleudern des Platinmohres zu verhindern, und im elektrischen Ofen abermals kurz geglüht. Nach dem Erkalten wird der Tiegel zur Wägung gebracht.

Arbeitsvorschrift. Die salzsaure Lösung des Platins wird in dem Fällungsschälchen mit einem Überschuß an Kaliumchlorid im Wasserbad zur Trockne eingedampft, bis der Geruch nach Chlorwasserstoff verschwunden ist. Der Trockenrückstand wird mit einigen Kubikzentimetern eines Gemisches von aldehydfreiem Alkohol und Äther (1 : 1) übergossen und mit einem Glasstab vorsichtig zerdrückt. Hierauf wird der Kapillarheber in das Schälchen eingesetzt und der Niederschlag in üblicher Weise in

[8]) G. Gire, Chem. Ztrbl., I., 811 (1926).

einem gewogenen Mikro-Neubauer-Tiegel filtriert. Der Tiegel wird vorgetrocknet und hierauf durch zirka 20 Minuten bei einer Temperatur von 1200 bis 1400° im elektrischen Ofen geglüht. Nach dem Glühen wird der Tiegel mit heißem, schwach essigsaurem Wasser ausgewaschen, der Deckel abgespritzt und abermals geglüht. Nach dem Abkühlen werden Tiegel und Deckel zur Wägung gebracht.

3. Quantitative Bestimmung des Platins durch Kolorimetrie.

Wie in der Literatur[9]) bekannt, färbt sich eine Lösung von K_2PtCl_6 durch Zugabe von Kaliumjodid unter Bildung von K_2PtJ_6 intensiv rot. Wir versuchten vorerst, diese Reaktion gravimetrisch auszuwerten, doch war es uns unmöglich, diese Verbindung in fester Form abzuscheiden, da dieser Komplex im reinen Zustand in wässeriger Lösung zwar sehr beständig, doch gegenüber reduzierenden Einflüssen äußerst empfindlich ist. Auch erschwert seine große Löslichkeit im Wasser die Darstellung in fester Form zu quantitativen Zwecken. Wir entschlossen uns daher, die rote Farbe der wässerigen Lösung zur Ausarbeitung einer kolorimetrischen Methode heranzuziehen, was uns nach Aufklärung verschiedener Fehlerquellen mit vollem Erfolge gelang. Da zur Trennung des Platins in der Analyse der Edelmetallegierungen am zweckmäßigsten dessen Abscheidung als K_2PtCl_6 vorgenommen wird, gingen auch wir von mit aldehydfreiem Alkohol gefälltem K_2PtCl_6 aus, welches in wässeriger Lösung durch Zugabe von Kaliumjodid in den Jodkomplex umgewandelt wird.

Wichtig ist dabei, daß das jeweils verwendete K_2PtCl_6 von jeder reduzierenden Substanz unbedingt befreit werden muß. Wir führen die Bestimmung auf folgende Weise durch:

Die Platinlösung wird mit einem Überschuß von Kaliumchlorid und einem Tropfen Salzsäure in einem Fällungsschälchen eingedampft. Der Trockenrückstand wird mit einigen Kubikzentimetern aldehydfreiem, mit Kaliumchlorid gesättigtem Alkohol versetzt und vorsichtig mit einem abgerundeten Glasstab zerdrückt. Der Alkohol wird durch einen Filterheber (Kapillarheber, dessen längerer Schenkel als Tauchfilter ausgebildet ist) (Fig. 2) abgesaugt.

[9]) Gmelin-Kraut, V, III, 242, 788. Verlag C. Winter, Heidelberg 1915.

Ist dies geschehen, so hebt man den Heber aus dem Schälchen, führt ihn in eine reine Eprouvette ein, die zum Zwecke der Vertreibung des sich im Heber befindlichen Alkohols mit einer fächeln-

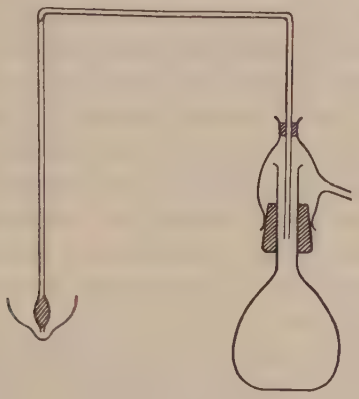


Fig. 2.

den Flamme erwärmt wird. Gleichzeitig wird durch den Heber zur Beschleunigung der Verdampfung Luft gesaugt. Ebenso entfernt man den restlichen Alkohol aus dem Schälchen durch gelindes Erwärmen. Nachdem dies geschehen ist, wird der Filterheber, der bis jetzt mit einer Saugflasche verbunden war, mittels eines helmartigen Aufsatzes[10]) auf einen Meßkolben montiert (Fig. 2) und wieder in das Schälchen gestellt. Der Niederschlag von K_2PtCl_6 wird in heißem Wasser gelöst und die Lösung hierauf in den Meßkolben gesaugt.

Die Lösung wird im Meßkolben mit einem Tropfen Salzsäure angesäuert und mit einigen Milligramm Jodkalium versetzt. Es bildet sich unter Rotfärbung der Komplex K_2PtJ_6. Sodann wird zur Marke aufgefüllt und nach einstündigem Stehen im Klett-Kolorimeter gegen einen Standard verglichen.

Pt berechnet	Pt gefunden			
	1h	△	24h	△
0,157	0,158	+ 0,001	0,156	+ 0,001
0,313	0,310	− 0,003	0,314	− 0,001

[10]) R. Strebinger und W. Zins, Mikrochemie. V, 166 (1927).

Zu dieser Bestimmung ist zu bemerken, daß jedes Agens, das irgendwie reduzierend wirken könnte, unbedingt fernzuhalten ist. Wie schon erwähnt, muß der Alkohol vollständig aus der Apparatur entfernt werden, da die geringsten Spuren unter Jodabscheidung zersetzend auf den Komplex einwirken und so ein Vergleichen der zu untersuchenden Lösung unmöglich machen. Ebenso sind zu große Kaliumjodidüberschüsse zu vermeiden, welche ebenfalls die Verbindung unter Jodabscheidung zersetzen. Als zweckdienlichste Menge ermittelten wir das zwei- bis fünffache Quantum, das jeweils zur Bildung des Komplexes K_2PtJ_6 notwendig ist. Besonders wichtig ist bei dieser Bestimmung die Anwendung von aldehydfreiem Alkohol. Wir konnten beobachten, daß bei Gebrauch des gewöhnlichen Alkohols als Waschmittel trotz nachheriger sorgfältigster Entfernung aus der Schale und aus der Apparatur nach dem Lösen des Niederschlages und Kaliumjodidzusatz in kurzer Zeit Zersetzungserscheinungen auftraten, die allem Anschein nach reduktiver Natur waren und nach einigen Stunden meist bis zum metallischen Platin führten. Ebenso war es uns möglich, nach kurzer Zeit Jodabscheidung durch Ausschütteln der Lösung mit Chloroform nachzuweisen. Bei Anwendung von aldehydfreiem Alkohol traten diese Erscheinungen nicht auf und ergab die Lösung immer, auch nach längerem Stehen (drei bis fünf Tage), innerhalb der Versuchsfehlergrenzen die gleichen Resultate. Aus diesem Grund nehmen wir an, daß der Aldehydgehalt des Alkohols schon das Platin des Komplexes K_2PtCl_6 zum Teil zu niederwertigeren Platinverbindungen reduziert, möglicherweise zu Salzen der H_2PtCl_4[11]), wodurch dann nach Zugabe von Kaliumjodid der sich bildende Jodkomplex des Platins unter Änderung des Farbtons und späterer Jod- und Platinabscheidung zersetzt wird. Vielleicht sind auch die bei den Kalium- und Platinbestimmungen auftretenden Abweichungen, die die Verwendung eines empirischen Faktors notwendig machen, nicht nur auf die Eigenschaft dieses Komplexes, Chlor gegen OH-Gruppen auszutauschen, zurückzuführen, sondern auch in einer Reduktion des K_2PtCl_6 durch den Aldehydgehalt des Alkohols zu Salzen der H_2PtCl_4, die eine größere Löslichkeit besitzen, zurückzuführen. Erwähnt soll werden, daß bei dieser Art der Bestimmung nur Alkohol allein als Waschmittel angewendet

[11]) Ephraim, Anorg. Chemie, Verlag Steinkopf, Leipzig (1929), S. 285.

werden darf, da der Äther bei längerer Berührung mit dem Niederschlage ähnliche Erscheinungen bedingt wie der Aldehyd. Es kann aber in diesem Fall ohne weiteres mit Kaliumchlorid gesättigter Alkohol benützt werden, da er viel kürzer mit dem Niederschlag in Berührung steht. Schließlich sei noch darauf verwiesen, daß zur Erzielung einwandfreier Analysenergebnisse die Verwendung amtlich geeichter Meßgefäße unbedingt notwendig ist.

Die auf Grund dieser Methode ermittelten Resultate stimmen sehr gut mit den errechneten Werten überein, so daß diese Bestimmungsform als rasch und verläßlich für Platinbestimmungen empfohlen werden kann.

Bestimmung des Platins in Legierungen.

Nachdem wir durch Ausarbeitung der gravimetrischen und insbesondere der kolorimetrischen Bestimmungsform des Platins eine brauchbare Arbeitsmethode gefunden hatten, konnte an unsere Hauptaufgabe, das ist die Bestimmung des Platins in hochwertigen Edelmetallegierungen, geschritten werden.

Platinlegierungen.

Die uns zur Untersuchung vorliegenden Platinlegierungen fassen wir unter dem Namen Schmuckplatine zusammen. Es sind dies Legierungen vom Typus I: Pt-Cu, II: Pt-Pd-Cu, weiters sogenannte Feilungsplatine, bestehend aus Pt-Pd-Au-Cu-Ni-Fe-Zn, werden durch Zusammenschmelzen von Platinlegierungen des Typus I und II mit Weißgoldabfällen hergestellt. Gefordert ist nach den österreichischen gesetzlichen Bestimmungen ein Feingehalt von 950 Pt[12]). Das von großen Legieranstalten gelieferte Material wies innerhalb der üblichen Inhomogenitätsgrenzen fast immer diesen Feingehalt auf, im Gegensatz zu den Feilungsplatinen, die vom Goldarbeiter selbst hergestellt, in den seltensten Fällen den angeforderten Bedingungen entsprechen. Sogenannte Geräteplatine, hauptsächlich mit Iridium legiert, lagen uns nicht zur Untersuchung vor.

Demnach haben wir neben Pt mit der Anwesenheit von Pd, Au, Ag, Cu, Ni, Zn, Fe zu rechnen, seltener sind Rh, Ru anzutreffen,

[12]) Bundesgesetz, 15. Dezember 1922 (Platinpunzierungsgesetz), § 1.

während wir den geringen Iridiumgehalt (2‰), der in jeder Platinlegierung vorhanden ist, mit dem Platin bestimmen.

Zur Trennung des Platins von den genannten Metallen wird die Fähigkeit der H_2PtCl_6, mit Kaliumchlorid ein unlösliches Salz zu bilden, herangezogen. Cu, Ni, Fe, Zn sind zu dieser Salzbildung nicht befähigt und können deshalb leicht ausgewaschen werden, während die dem Platin ähnlichen Komplexe des Pd, Au, Rh, Ru schon bei Gegenwart geringer Wassermengen löslich und ohne weiteres mit 96%igem Alkohol zu entfernen sind. Allenfalls vorhandenes Ag wird als AgCl-Niederschlag abgeschieden. Andere Trennungsmethoden sind zu umständlich und können kaum auf größere Genauigkeit Anspruch erheben.

Zur Bestimmung wurden die in dieser Arbeit unter 2 und 3 angegebenen Methoden verwendet.

Probenahme.

Bevor wir das Material analytisch verarbeiten, versuchen wir den Feingehalt der Legierung beiläufig festzustellen. Wir ziehen zu diesem Zweck die Strichmethode heran, über die im Buche von K. HRADECKY[13]) Erschöpfendes ausgeführt erscheint. Je nachdem, ob das Probegut in roher oder fassonierter Form vorliegt, werden verschiedene Wege der Probenahme beschritten.

Haben wir die Legierung als Werkstück vor uns, so wird sie auf der Lamellierwalze zu einem möglichst dünnen Blech gestreckt, dieses wird hierauf mit grobem, später mit blankem Schmirgelpapier blankgeputzt, mit einem reinen Lappen abgerieben und schließlich in einem Ätheralkoholgemisch entfettet. Diese Operationen sind notwendig, um die auf der Legierung haftenden Oxyd- und Schmutzschichten zu entfernen. Von dem blanken Blech werden mittels einer Schere schmale Streifen geschnitten, bei einiger Übung gelingt es, diese in einem Stück, in dem zur Einwaage nötigen Gewicht (3 bis 5 mg) zu erhalten. Sollte aus irgendeinem Grunde ein Auswalzen des Probematerials unmöglich sein, so werden von ihm mittels eines dreikantigen, scharf geschliffenen Stahl-

[13]) K. HRADECKY, Die Strichprobe der Edelmetalle. Verlag J. Springer, Berlin 1930.

schabers kleine Späne abgeschnitten, selbstverständlich muß auch in diesem Fall das Material oberflächlich gründlich gereinigt werden. Das so gewonnene Probegut wird mittels einer Platinpinzette in ein Wägefläschchen gebracht und auf übliche Weise in die von uns beschriebenen Fällungsschälchen gewogen.

Liegt das Material in fassonierter Form (Ring, Ketten, Broschen, Uhrgehäuse) vor, so ist die Probenahme schwieriger, da ja der Gegenstand möglichst wenig beschädigt werden soll. Ein weiterer Faktor, der die Probenahme erschwert, ist das Vorhandensein von Lotstellen. Da das sogenannte Platinlot gewöhnlich kein Platin, sondern nur Pd-Au-Ag-Cu enthält, ist es klar, daß ein Probegut, das zufällig eine Lotstelle einschließt oder vom Lot überflossen wurde, die absonderlichsten Analysenresultate zeitigt. Wir müssen deshalb die Lotstellen aufsuchen, was mit Hilfe einer Lupe und Kenntnis der Herstellungsart des Gegenstandes leicht durchführbar ist. Im Zweifelsfall streicht man den Gegenstand an der zu untersuchenden Stelle auf einen Probierstein und betupft den Strich mit kaltem Königswasser. Ist eine Lotstelle vorhanden, so wird der Strich unter Verfärbung, durch das vorhandene Palladium und Gold verursacht, angegriffen, eine Erscheinung, die bei Strichen hochwertiger Schmuckplatine niemals auftritt. Außerdem kann man das Gold und Palladium am Strich direkt[14]) oder mikrochemisch[15]) in dem im Königswasser gelösten Anteil nachweisen.

Hat man sich von der Lotfreiheit der zu untersuchenden Stelle überzeugt, so streicht man den Gegenstand in einer vorgewogenen Glasschale, deren Boden und ein Viertel der Wandung mit einem Sandstrahlgebläse angerauht wurde[16]). Das Probegut bleibt an der rauhen Wand haften und wird durch die Differenzwägung bestimmt. Selbstverständlich darf die Schale, um Fehler zu vermeiden, nach der ersten Wägung beim Streichen nicht mehr mit der bloßen Hand angefaßt werden. Wir umhüllen sie deshalb bei dieser Operation mit einem Rehlederlappen, um sie vor Fett und

[14]) K. Hradecky, Die Strichprobe der Edelmetalle, Verlag J. Springer, Berlin 1930.

[15]) R. Strebinger und H. Holzer, Mikrochemie, VIII, 264 (1930).

[16]) Alle von uns beschriebenen Geräte wurden von Paul Haack, Wien, IX., hergestellt.

Feuchtigkeit der Hände zu bewahren. Ebenso ist es notwendig, mit der Differenzwägung bis nach Eintritt des Temperaturausgleiches mindestens 20 Minuten zuzuwarten.

Ist diese Art der Probenahme aus irgendwelchen Gründen (Größe des Gegenstandes, Gefahr des Berührens der Schale mit den Fingern) nicht durchführbar, so bedienen wir uns eines quadratischen Glasplättchens von 15 bis 20 mm Seitenlänge und 3 bis 4 mm Dicke, dessen eine Seite ebenfalls angerauht ist. Das Plättchen wird vor dem Streichen mit einer Glasschale gewogen, mit einer Platinpinzette herausgehoben und in einen in den Dimensionen des Plättchens ausgenommenen Holzblock gesetzt, so daß die rauhe Oberfläche des Plättchens und der Holzblock eine Ebene bilden. Diese Versuchsanordnung ermöglicht die Probenahme an jedem Gegenstand, ohne ihn nennenswert zu beschädigen. Um ein Ausbrechen des Glases am Umfang des Plättchens zu vermeiden, werden die Ränder schwach abgeschliffen. Ist vom Probegut eine genügende Menge auf das Glasplättchen aufgetragen, wird es mittels einer Platinpinzette aus dem Holzblock gehoben und zur Wägung wieder in die Glasschale gebracht.

Das so vorbereitete Probematerial wird nun am Wasserbad mit einigen Kubikzentimeter Königswasser ($2\,HCl + 1\,HNO_3$) zu Lösung gebracht. Um ein Verspritzen zu vermeiden, wird die Schale mit einem Uhrglas bedeckt. Sollte zum Schluß der Lösungsprozeß etwas träge werden, ist es vorteilhaft, ihn durch Zugabe von einigen Tropfen 10%igem H_2O_2 zu beschleunigen. Ist alles in Lösung gegangen, so wird das Uhrglas abgespritzt und entfernt. Wir stülpen über das Fällungsschälchen einen Trichter (Fig. 3), durch dessen röhrenförmigen Ansatz wir eine Kapillarpipette führen, so zwar, daß ihre Spitze sich zirka 2 cm über dem Flüssigkeitsspiegel befindet. Durch die Kapillarpipette blasen wir einen schwachen, durch Baumwolle filtrierten Luftstrom und erreichen so ein wesentlich rascheres Eindampfen. Um die letzten Reste von Salpetersäure zu entfernen, wird mit einigen Tropfen konzentrierter Salzsäure abgeraucht und abermals eingedampft.

Wurde die Probenahme durch Streichen in der Schale oder am Plättchen vorgenommen, ist es im Falle der gravimetrischen Bestimmung unbedingt notwendig, die Lösung zu filtrieren, um sie vor eventuell vorhandenen Glassplittern zu befreien. Ebenso ist

bei silberhaltigen Platinen eine Filtration zur Entfernung des Chlorsilberniederschlages vorzunehmen.

Die erhaltene klare salzsaure Lösung wird mit einem Überschuß von Kaliumchlorid (zirka 20 mg) und einigen Tropfen Salzsäure versetzt und zur Trockne gedampft. Der Rückstand wird hierauf, wie unter Bestimmungsmethode 2[17]) angegeben, weiter behandelt.

Um uns von der Genauigkeit der Trennungsmethode ein Bild zu machen, stellten wir zuerst Versuche mit der reinen Platinlösung an, der wir verschiedene Edelmetallsalzlösungen beimengten. Das Verhältnis vom Platin zum beigemengten Metall wählten wir so, daß wir unter denselben Bedingungen wie bei Legierungen arbeiten konnten, also Platin 90 (95), Palladium 10 (5). Die Versuchsergebnisse zeigten maximal einen Fehler von 1%, eine Fehlergrenze, die hinsichtlich der geringen Einwaage, zirka 2,5 bis 3 mg, und des hohen Platingehaltes zweifellos nicht in der Trennungsmethode, sondern im Bereich der unvermeidlichen Arbeitsfehler gelegen ist..

Platin (Palladiumlösung beigemengt)		
berechnet	gefunden	△
2,509	2,485	—0,024
2,509	2,491	—0,018
Platin (Rhodiumlösung beigemengt)		
berechnet	gefunden	△
2,509	2,489	—0,020
Platin (Goldlösung beigemengt)		
berechnet	gefunden	△
2,509	2,490	—0,019

Vorstehend angeführte Resultate beweisen wohl zur Genüge die Durchführbarkeit der Trennung. Da es uns nicht möglich war, die beigegebenen Edelmetalle infolge der kleinen Einwaage ebenfalls quantitativ zu erfassen, mußten wir uns begnügen, in Parallelproben qualitativ den Niederschlag von K_2PtCl_6 auf seine Reinheit, bezw. die Waschflüssigkeit auf eventuell in Lösung gegangenes Platin zu prüfen. In jedem Falle konnten wir feststellen, daß im Niederschlag kein anderes Metall zurückgehalten wurde, er also praktisch rein war, während die in der Waschflüssigkeit nachgewiesenen Platinmengen so geringfügig waren, daß sie in die Grenzen unwägbarer Mengen fielen und deshalb die Bestimmung nicht

[17]) Siehe Seite 407.

wesentlich beeinflussen konnten. Zum qualitativen Nachweis der Metalle wurden natürlich Mikromethoden herangezogen[18]).

A. Bestimmung durch Auswägung des Metalls.

Nach der vorstehend beschriebenen Probenahme werden 3 bis 4 mg des Materials zur Analyse vorbereitet, gelöst und, wie unter 2 angegeben, behandelt.

An Untersuchungsmaterial verfügten wir über sechs Platinlegierungen, und zwar 3 (a, b, c), die von einer bedeutenden Legieranstalt zu Versuchszwecken hergestellt wurden, unter Angabe des Feingehaltes und der Beilegierungen. Die drei übrigen (d, e, f) sind Schmuckplatine, die von schon fassonierten Gegenständen stammen. Ihre Feingehalte wurden dokimastisch ermittelt, die Beilegierungen wurden von uns auf mikrochemischem Wege qualitativ festgestellt.

Versuchsplatine:

a) 950 Pt, 20 Pd, 30 Cu,
b) 950 Pt, 30 Pd, 20 Cu,
c) 900 Pt, 100 Pd.

Schmuckplatine:

d) dokimastisch 952 Pt (Pd, Au, Cu, Ni, Fe, Zn),
e) dokimastisch 918 Pt (Rh, Pd, Au, Cu, Ni, Zn),
f) dokimastisch 976 Pt (Pd).

Legierungen a, b, c.

Die an diesen Legierungen (die uns in Stabform, Länge zirka 10 cm, Querschnitt 3×5 mm, vorlagen) durchgeführten Analysen zeigten untereinander Schwankungen bis zu $\pm3\%$ des angegebenen Platingehaltes, so daß bei uns Zweifel an der Durchführbarkeit unserer Methode rege wurden. Wir waren deshalb genötigt, das Material einer systematischen Untersuchung zu unterziehen. Da wir auf Grund unserer Analysen an reinen Pt-Lösungen von der Richtigkeit unserer Arbeitsweise überzeugt waren, blieb nur eine Erklärung der Gehaltsschwankungen möglich, nämlich eine eventuelle

[18]) R. Strebinger und H. Holzer, Mikrochemie, VIII, 264 (1930).

Inhomogenität des Materials, die bei der geringen Substanzmenge, mit der wir die Analyse durchführten, dann beim Analysenergebnis zum Ausdrucke kommt. Um uns vom Zutreffen dieser Annahme zu überzeugen, haben wir, von einer größeren Einwaage ausgehend (zirka 30 bis 50 mg), nach dem Lösen der Substanz und Überführen in einen Meßkolben, aliquote Teile untersucht. Die Ergebnisse waren derart zufriedenstellend, daß wir die Richtigkeit unserer Methode nicht mehr bezweifeln konnten, sondern nach dieser Bestätigung die Ursache der Abweichung der Resultate nur mehr in der Inhomogenität des Materials zu suchen war. Zum Beweis dessen stellten wir Versuchsserien auf, so zwar, daß wir in beiläufig je 1 cm Abstand Proben entnahmen, die in genügender Zahl im Durchschnitt den angegebenen Feingehalt ergaben.

Eingewogen 27,760 mg, auf 10 ccm aufgefüllt, davon je 2 ccm verarbeitet.

Gehalt der Legierung a:		Gefunden:	
950‰ Pt		5,253 mg = 946,2‰	
		5,250 mg = 945,6‰	
Legierung a:		Legierung b:	
955,5‰		960,5‰	
939,2‰		974,5‰	
947,4‰		975,5‰	
935,5‰	Durchschnitt	926,2‰	Durchschnitt
957,5‰	945‰	948,9‰	947,8‰
917,8‰		924,0‰	
925,0‰		955,0‰	
975,8‰		917,9‰	

Es ist demnach notwendig, bei inhomogenem Material mit größeren Einwaagen zu arbeiten, wenn man es nicht vorzieht, eine Serie von Analysen verschiedener Stellen des Probegutes durchzuführen, um den richtigen Durchschnittswert zu ermitteln.

Die an der Legierung c durchgeführten Untersuchungen bestätigten diese Ansicht, und waren wir in der Lage, von größeren Einwaagen ausgehend, wiederholt den angegebenen Feingehalt von 900‰ Pt festzustellen.

Legierungen d, e, f.

Ein wesentlich anderes Bild boten uns die Legierungen d, e und f, deren Feingehalt dokimastisch ermittelt worden war. Es ergaben unsere Analysen immer um 20 bis 30‰ niederere Zahlen als die dokimastisch bestimmten Werte.

Legierung d:	Legierung e:	Legierung f:
930,7	880	948,3
931	880,5	950,2
929	879	951

Da sowohl die an reinen Lösungen wie auch die an den Versuchslegierungen ermittelten Werte mit dem angegebenen Feingehalt bei allen Analysen eine tadellose Übereinstimmung ergaben, war die Ursache der Abweichungen der drei Schmuckplatine nur in der dokimastischen Bestimmungsmethode des Platins zu suchen. Die Dokimasie des Platins ist infolge ihrer großen Fehlerquellen (Differenzmethode) nicht sonderlich genau; außerdem werden bei ihr die anderen Platinmetalle (Rh, Ru), die bis zu 30‰ in einer Legierung vorhanden sein können, mit dem Platin bestimmt, da sie dokimastisch nicht abtrennbar sind. Würden sich diese Fehler auch bei gleichen Arbeiten bis zu einem gewissen Grad kompensieren und dadurch annähernde Analysenergebnisse zeitigen, so muß die Dokimasie bei palladiumhaltigen Legierungen ihren Wert zur Gänze verlieren, da es uns unmöglich erscheint, das Palladium durch Solvation mit Schwefelsäure quantitativ zu entfernen. Besonders deutlich konnten wir die Richtigkeit dieser Ansicht an der Legierung f beweisen. Diese Legierung ist ein von einer Legieranstalt in den Handel gebrachtes Schmuckplatin von der Zusammensetzung 950‰ Pt + 50‰ Pd; dokimastisch wurde ein Feingehalt von 976‰ Pt ermittelt, während wir mikroanalytisch den Feingehalt, übereinstimmend mit der Angabe, mit durchschnittlich 950‰, feststellen konnten. Somit erscheinen unsere bei den Legierungen d, e und f aufgetretenen scheinbaren Fehlresultate geklärt.

Zusammengefaßt ergibt sich, daß die von uns ausgearbeitete gravimetrische Methode bei einer Einwaage von 3 bis 5 mg ohne weiteres durchführbar ist, vorausgesetzt, daß es sich um ein homo-

genes Untersuchungsmaterial handelt. Sollte man Inhomogenität der Legierung feststellen, so ist es notwendig, um einen richtigen Durchschnittswert zu bekommen, eine größere Anzahl verschiedener Analysen durchzuführen (verschiedene Stellen der Legierung) oder mit größeren Einwaagen (30 bis 50 mg) zu arbeiten, von denen dann aliquote Teile in Untersuchung gestellt werden. Natürlich entnimmt man dann nicht an einem Ort, sondern sammelt das Probengut ebenfalls von verschiedenen Stellen der Legierung durch Abschaben in ein Wägegläschen, um auf diese Weise ein Durchschnittsausgangsmaterial zu erhalten. Selbstverständlich sind die bei Probenahmen an Gegenständen alle in dem Abschnitt „Probenahme" angeführten Vorsichtsmaßregeln einzuhalten.

Erfahrungsgemäß können wir mitteilen, daß Platinlegierungen, die in kleinen Mengen (bis zirka 50 g) erschmolzen wurden, äußerst selten homogen erhalten werden können, so daß sich meistens Schwankungen von beiläufig ± 2 bis 3% um den gewünschten Feingehaltsgrad ergeben. Der Grund ist unserer Meinung nach einerseits in dem hohen Schmelzpunkt des Platins und der ihm beilegierten Metalle, meistens aber in der unzulänglichen Arbeitsmethode des Zwergbetriebes, die von vornherein ein homogenes Produkt ausschließt, zu suchen. Es ist deshalb, um sich unnötige Arbeit zu ersparen, meist nützlich, die Herkunft des Probenmaterials (ob von einer Legieranstalt hergestellt oder im Kleinbetrieb) zu ermitteln.

B. Kolorimetrische Bestimmung des Platins in Legierungen.

Wie schon im entsprechenden Abschnitt an Versuchen mit reinen Lösungen mitgeteilt, ist diese Art von Bestimmung von der Stabilisierung des Komplexes K_2PtJ_6 abhängig. Wir erreichten dies durch Herstellung der Verbindung über das K_2PtCl_6, weiters durch Anwendung von aldehydfreiem Alkohol als Wasch- und Trennungsmittel und durch peinlichste Ausschaltung aller auf die Platinverbindung reduzierend wirkenden Agenzien und schließlich in der Vermeidung eines zu großen Überschusses von KJ zur Komplexbildung. Unter diesen Bedingungen war es uns möglich, den Komplex durch 5 bis 8 Tage beständig zu halten. Werden diese Voraussetzungen nicht berücksichtigt, so tritt nach kurzer Zeit Reduktion ein, die in wenigen Stunden zu metallischem Platin führt.

Damit erscheinen auch Behauptungen, die dieser Komplexverbindung nur eine Haltbarkeit von 12 bis 24 Stunden zubilligen, erklärt. Die Bildung des Jodkomplexes dauert bei unseren Arbeitsverhältnissen (3 mg Platin auf 100 ccm Wasser) zirka 1 bis $1^1/_2$ Stunden, sie kann aber durch Erwärmen am Wasserbad auf 60° um mehr als die Hälfte abgekürzt werden.

Die Trennung des Platins von den Beilegierungen ist grundsätzlich die gleiche, die bei den anderen Bestimmungen angewendet wurde, mit den im Abschnitt 3 beschriebenen apparativen Abänderungen.

Als Standard benützen wir eine wässerige K_2PtCl_6-Lösung von bekanntem Gehalt, die in einem Meßkolben im Gebrauchsfalle durch Zugabe von KJ in den Jodkomplex umgewandelt wird. An älteren Lösungen (3 bis 4 Monate) konnten wir beobachten, daß dieselben unsere Versuchsergebnisse ungünstig beeinflußten. Der Grund lag in einer Unbeständigkeit der Lösung des K_2PtCl_6, das sich teilweise in Salze des zweiwertigen Platins umwandeln dürfte, dies um so mehr, als wir nach Oxydation der jeweils verwendeten Standardlösung mit Königswasser einwandfreie Resultate erzielten. Die Durchführung dieser Oxydation (1 ccm Standardlösung wird mit einigen Tropfen Königswasser trocken gedampft, mit HCl zum Vertreiben der HNO_3 abgeraucht und in einem 25-ccm-Meßkolben gebracht) bedeutet keinen Zeitverlust, da sie ja bequem neben dem Lösen oder Eindampfen der Legierung vorgenommen werden kann. Schließlich sollen die Verhältnisse für Standard und Probelösung so gewählt werden, daß beide im Kubikzentimeter annähernd den gleichen Gehalt an Platin aufweisen.

Die Ablesefehler beim Kolorimetrieren können durch Vornahme mehrerer Ablesungen mit verschiedener Farbintensität auf ein Minimum (0,2 bis 0,6%) herabgedrückt werden.

Die kolorimetrische Bestimmung ist entschieden der gravimetrischen vorzuziehen, da sie dieser gegenüber bedeutende Vorteile besitzt. Durch Ausschalten des umständlichen Glühens und einer zweiten Wägung führt die Kolorimetrie rascher zum Ziel, durch Vermeidung der eventuellen Fehler beim Glühen und der Wägefehler durch Auswägen als reines Metall, ist auch größere Genauigkeit bedingt, und endlich gestattet die kolorimetrische Bestimmung

die Möglichkeit der Durchführung von Serienanalysen, ein Umstand, der für die Praxis von großer Bedeutung ist.

Die im vorstehenden ausgeführte Meinung über Inhomogenität und ein fehlerhaftes Arbeiten der Dokimasie konnte auch kolorimetrisch bestätigt werden. Um richtige Durchschnittswerte zu erhalten, gehen wir von größeren Einwaagen aus, von denen wir nach dem Lösen und Auffüllen zur Marke aliquote Teile in Untersuchung stellen. Die Übereinstimmung mit der gravimetrischen Methode kann als vollkommen zufriedenstellend bezeichnet werden.

Analysenergebnisse:

Gravimetrisch:	Kolorimetrisch:
Legierung:	Legierung:
a) 947,4 ‰	a) 951 ‰, 950 ‰, 947,3 ‰
b) 948,9 ‰	b) 948 ‰, 949 ‰, 953 ‰
c) 899 ‰	c) 898 ‰, 902 ‰
d) 930,7 ‰	d) 929 ‰, 926 ‰, 931 ‰
e) 879,5 ‰	e) 879 ‰, 874 ‰, 880 ‰
f) 948 ‰	f) 948 ‰, 950 ‰, 947 ‰

Zusammenfassung.

Es wurde gezeigt, daß das Platin mikrochemisch sowohl durch Wägung als K_2PtCl_6, unter genauester Einhaltung der Arbeitsvorschrift, als auch nach Zerstörung dieses Komplexes als metallisches Platin bestimmt werden kann. Weiters wurde eine kolorimetrische Bestimmungsmethode des Platins ausgearbeitet, welche wegen der vielen Vorteile und großen Genauigkeit besonders empfehlenswert ist. Beide Bestimmungsmethoden liefern bei Anwendung zur Analyse hochwertiger Platinlegierungen tadellose Werte.

Über den mikrochemischen Nachweis von Natrium mittels Uranylazetat.

Von **Ardoino Martini.**

Universidad Nacional del Litoral, Rosario de Santa-Fe, Argentina.

(Eingelangt am 17. November 1930.)

Der von STRENG angegebene Nachweis von Natrium ist von verschiedenen Seiten einer kritischen Beurteilung unterzogen worden. CHAMOT und BEDIENT[1]) kommen zu dem Ergebnis, daß Zink-Uranylazetat das beste Reagens zur Prüfung auf Natrium sei. Obwohl der neuen Reaktion eine sehr große Emfindlichkeit eigen ist, eignet sie sich infolge geringer Spezifität der Kristalle weniger zur Erkennung des Natriums in Mischung mit verwandten Kationen. Da die Kristalle von Natrium-Uranylazetat eine ziemlich große Löslichkeit besitzen, so daß die Reaktion mit dem Trockenrückstand der Lösung angestellt und das Reagens in kleiner Menge zugesetzt werden muß, habe ich mir die Aufgabe gestellt zu ermitteln, in welcher Weise die Arbeitsbedingungen abzuändern sind, um die Reaktion auf nassem Wege durchzuführen ohne Beeinträchtigung ihrer Spezifität, auch wenn andere Ionen vorhanden sind.

Nach meinen Erfahrungen stellt man die Lösung in anderer Weise her, als es von BEHRENS und anderen Verfassern angegeben wird. Ich beginne damit, kristallisiertes Uranylazetat herzustellen, indem ich nach WERTHEIM von Uranylnitrat $UO_2(NO_3)_2 . 6 H_2O$ p. a. ausgehe. Dieses löse ich in warmer konzentrierter Essigsäure (4 : 1) auf. Beim Abkühlen scheidet sich $UO_2(C_2H_3O_2)_2 . 2 H_2O$ ab. Die nach der Kristallisation übrigbleibende klare Lösung benutze ich als Reagens. Ich verfahre folgendermaßen: Ich gebe zu

[1]) Vergl. hierzu E. M. CHAMOT und H. A. BEDIENT, Mikrochemie **VI**, 13 (1928).

einem Tropfen der Na-Salzlösung (NaCl im Verhältnis 1 : 100) eine kleine Menge $(NH_4)_2CO_3$ p. a. in Pulver und dann einen Tropfen des Reagens. Es folgt ein starkes Aufwallen; wenn dies vorüber ist, gibt man einen Tropfen Pyridin zu. Es bildet sich vom Rande aus ein kristallinischer Niederschlag und unter dem Mikroskop erkennt man zahlreiche Tetraeder. Dieselbe Arbeitsweise führt auch zum Ziele, wenn die Reaktion mit einer zusammengesetzten Mischung von Alkalien im Verhältnis $NH_4 : K : Rb : Cs : Na = 10 : 10 : 10 : 10 : 1$ angestellt wird. Ebenso bekommt man die typischen Tetraeder mit einer Lösung von K_2CO_3 und NaCl im Verhältnis $K : Na = 100 : 1$ oder wenn man derselben Lösung Tropfen von gesättigten Lösungen von Ba-, Mg-, Cd-, Cu-, Co-, Ni- usw. Salzen hinzufügt.

Wenn die genannte Reaktion mit einer Lösung ausgeführt wird, die auch andere Stoffe enthält, entstehen fast immer andere Kristalle, aber die charakteristischen Tetraeder von Natrium-Uranylazetat sind immer in kleineren oder größeren Mengen zu erkennen. Ich habe dieselbe Technik in verschiedenen Gelen erprobt und habe die besten Ergebnisse erhalten, sowohl hinsichtlich der Schnelligkeit der Kristallisation wie auch hinsichtlich des Wachsens der Kristalle.

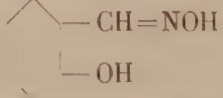
Über die Mikrobestimmung des Kupfers mit Salizylaldoxim.

Von **Wilhelm Reif.**

Aus dem Laboratorium für Mikroanalyse an der Technischen Hochschule Wien.

(Eingelangt am 4. März 1931.)

Unter den bisher bekannten mikrogravimetrischen Bestimmungsmethoden des Kupfers ist die Elektrolyse nach F. PREGL[1]) wohl die einfachste und rascheste. Das von F. FEIGL[2]) angegebene für Kupfer spezifische Benzoinoxim wurde von R. STREBINGER[3]) zur gewichtsanalytischen Mikrobestimmung verwendet. In letzter Zeit wurde von F. EPHRAIM[4]) im Salizylaldoxim ein neues Reagens zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des Kupfers gefunden. Es bildet mit Kupfersalzen in schwach essigsaurer Lösung einen voluminösen, grünlichweißen Niederschlag von der Zusammensetzung $(C_7H_6O_2N)_2Cu$, der 18,95% Cu enthält



Wie von R. STREBINGER[5]) gezeigt wurde, sind von einer brauchbaren Bestimmungsform eines Elementes für mikroanalytische Zwecke die Erforderungen zu erfüllen, daß sie einerseits als Fällungsform bloß getrocknet werden braucht, um die Wägungsform zu geben, anderseits einen großen Molekülkomplex mit kleinem Berechnungsfaktor für den zu ermittelnden Bestandteil darstellt und endlich genügend spezifisch ist, um auch Trennungen von

[1]) Die quantitative organische Mikroanalyse, 2. Aufl., 1923, S. 164.
[2]) Mikrochemie I, 76 (1923).
[3]) Mikrochemie I, 72 (1923).
[4]) B. 63, 1928 (1930).
[5]) Fortschritte der Mikrochemie, Wien 1929, S. 6.

anderen Elementen zu ermöglichen. In dieser Hinsicht befriedigt das EPHRAIM'sche Reagens die gestellten Ansprüche, und es war der Versuch naheliegend, das von EPHRAIM für die Makroanalyse gegebene Arbeitsverfahren für die Kupferbestimmung auf die Mikroanalyse auszudehnen. Es soll gleich hier vorweggenommen werden, daß in manchen Punkten Abänderungen getroffen wurden, um eine verwertbare Methodik für die Mikrobestimmung zu schaffen.

Spezieller Teil.

I. Die Bestimmung des Kupfers.

Als Fällungsreagens wird am besten eine frisch hergestellte 5%ige alkoholische Lösung von Salizylaldoxim angewendet. Die unmittelbare Übertragung der von EPHRAIM gegebenen makroanalytischen Arbeitsvorschrift, bei der die Probelösung zuerst bis zum Auftreten eines bleibenden Niederschlages mit Natronlauge versetzt und dieser durch Zusatz von einigen Tropfen Essigsäure wieder gelöst wird, führte manchmal zu Unsicherheiten in der Vollständigkeit der Fällung. Es ist nämlich schwer, besonders bei sehr geringen Kupfermengen, die bleibende Trübung mit Lauge rechtzeitig zu erkennen, und dies führt nachträglich wieder zu einer Schwierigkeit in der richtigen Dosierung der Azidität; es zeigte sich — die zugehörigen Versuchsdaten sollen hier nicht wiedergegeben werden — daß bei einem zu großen Zusatz von Essigsäure die Fällung nicht mehr quantitativ war. Eine Pufferung der Azidität mit Natriumazetat wäre wohl möglich, ist aber im Hinblick auf die Adsorption von Alkaliionen durch den flockigen Niederschlag bei der Mikrobestimmung nicht empfehlenswert. Es wurde nun bei dieser Sachlage zu einem einfachen Ausweg gegriffen. Die Neutralisation der Probelösung läßt sich statt mit Lauge ohne weiteres mit Ammoniak durchführen, man hat hier den Vorteil, daß sich das gebildete Kupferhexamminsalz durch seine tiefblaue Farbe deutlich zu erkennen gibt. Die Einstellung der zu untersuchenden Lösung auf schwache Azidität kann nun statt mit Essigsäure auch mit Ammonazetat erzielt werden. Das Ammonazetat des Handels ist nämlich kein neutrales Salz der Formel CH_3COONH_4, sondern ein saures Salz, d. h. stöchiometrisch zusammengesetzt aus 1 Mol. CH_3COONH_4 und 1 Mol. CH_3COOH. Fügt man daher zur schwach ammoniakalischen

Kupferlösung portionsweise so lange Ammonazetat, bis die blaue Farbe der Komplexlösung verschwindet, so ist die Lösung schwach essigsauer geworden. Die Fällung selbst kann analog nach EPHRAIM durchgeführt werden. Zusammenfassend kann folgende Arbeitsvorschrift gegeben werden:

Die Probelösung, deren Volumen ungefähr 2 bis 5 cm^3 betragen soll, wird in einer vorher mit Schwefelchromsäure gereinigten Eprouvette mit verdünntem Ammoniak aus einer Kapillare tropfenweise versetzt, bis zum Auftreten einer deutlichen Blaufärbung. Nachher gibt man in geringen Mengen nach und nach Ammonazetat zu, bis die Blaufärbung verschwindet, und fällt das vorhandene Kupfer mit einer frisch bereiteten 5%igen alkoholischen Lösung von Salizylaldoxim im Überschuß bei gewöhnlicher Temperatur. Der entstehende grünlichweiße Niederschlag wird durch Schütteln der Eprouvette zum Zusammenballen gebracht, durch neuerliche Zugabe von Salizylaldoxim auf Vollständigkeit der Fällung geprüft und nach 10 bis 20 Minuten Absetzenlassen in ein PREGL'sches Filterröhrchen übergesaugt. Der Niederschlag wird mit kaltem Wasser gut nachgewaschen, am Schlusse wird die Eprouvette abwechselnd mit kaltem Wasser und Alkohol ausgespült, um die letzten Niederschlagsreste auf die Asbestschicht zu bringen, und endlich mit Alkohol allein. Nach kurzem Trockensaugen an der Wasserstrahlpumpe wird das Filterröhrchen im Trockenblock bei 105° je 5 Minuten in der weiten und engen Bohrung gelassen. Hernach läßt man abkühlen und wägt. (Faktor = = 0,1895, Logarithmus = 0,27761—1.)

Die erhaltenen Werte zeigt die folgende Tabelle.

1 cm^3 $CuSO_4$-Lösung = 0,660 mg Cu.

cm^3	$(C_7H_6O_2N)_2Cu$	Cu gefunden	Cu berechnet	Δ mg
1,0	3,514 mg	0,666 mg	0,660 mg	+ 0,006
2,0	6,921 mg	1,312 mg	1,320 mg	— 0,008
0,5	1,736 mg	0,329 mg	0,330 mg	— 0,001
0,1	0,367 mg	0,069 mg	0,066 mg	+ 0,003

Der Titer der verwendeten Lösung wurde mikrochemisch durch Elektrolyse und mittels Fällung durch Benzoinoxim bestimmt.

II. Die Bestimmung des Kupfers neben Ammonsalzen.

Bekanntlich erweist sich die sonst vorzüglich anwendbare Fällung des Kupfers mit Benzoinoxim gegen Ammonsalze empfindlich, letztere verursachen eine allerdings geringe Löslichkeit des Niederschlages. Zum Vergleiche wurde das Verhalten der Kupferfällung des Salizylaldoxims gegen Ammonsalze geprüft, und wie die folgenden Belegzahlen ausweisen, ist das EPHRAIM'sche Reagens sehr geeignet, um auch in ammonsalzreichen Lösungen das Kupfer quantitativ zu fällen. Die letzten Zahlen der Tabelle verdienen hervorgehoben zu werden: sie zeigen die Fällung des Cu neben der 10.000fachen Menge an NH_4Cl. Es kann daher die obige Arbeitsvorschrift auch bei Anwesenheit von Ammonsalzen empfohlen werden.

cm^3	$(C_7H_6O_2N)_2Cu$	NH_4Cl	Cu gefunden	Cu berechnet	Δ mg
1,0	3,367 mg	60 mg	0,653 mg	0,660 mg	— 0,007
0,5	1,762 mg	60 mg	0,334 mg	0,330 mg	+ 0,004
0,1	0,322 mg	600 mg	0,061 mg	0,066 mg	— 0,005

III. Die Bestimmung des Kupfers neben Eisen.

Der Versuch, die vorhin gegebene Arbeitsvorschrift auf die Fällung des Kupfers bei Gegenwart von Eisen anzuwenden, mißlang. Der sonst grünlichweiße Kupferniederschlag war braunviolett verfärbt, herrührend vom mitgefällten Eisensalz. Um das Mitreißen des Eisensalzes zu verhindern, wurde ein Zusatz von Weinsäure angewendet, welche einen genügend stabilen Tartratkomplex mit dem Fe bildet, so daß der Cu-Niederschlag rein ausfällt. Die abgeänderte Arbeitsvorschrift lautet: Die Probelösung in der Eprouvette wird mit einer Messerspitze Weinsäure und dann tropfen-

weise mit verdünntem Ammoniak bis zur Blaufärbung versetzt. Die weitere Ausführung erfolgt nach der ursprünglichen Vorschrift.

cm^3	$(C_7H_6O_2N)_2Cu$	Fe	Cu gefunden	Cu berechnet	Δ mg
2,0	6,987 mg	25 mg	1,324 mg	1,320 mg	+ 0,004
1,5	5,214 mg	10 mg	0,988 mg	0,990 mg	— 0,002
0,2	0,723 mg	25 mg	0,137 mg	0,132 mg	+ 0,005

IV. Die Trennung des Kupfers von Nickel.

Mehrere Vorversuche ergaben, daß eine Trennung des Kupfers von Nickel am praktischesten durch vorherige Abscheidung des Ni mit Dimethylglyoxim nach R. STREBINGER[6]) und nachträgliche Fällung des Cu mit Salizylaldoxim bewerkstelligt werden kann. Um ein Mitreißen des Cu zu verhindern, wurde auch hier die Komplexbindung mit Weinsäure angewendet.

Arbeitsvorschrift: Die Probelösung wird mit einer Messerspitze Weinsäure und dann tropfenweise mit verdünntem Ammoniak bis zur Blaufärbung versetzt. Hierauf wird das vorhandene Ni durch tropfenweisen Zusatz einer 1%igen alkoholischen Dimethylglyoximlösung gefällt, die Eprouvette im Wasserbadeinsatz auf 70 bis 80° C durch etwa eine halbe Stunde erwärmt, bis sich der rote Niederschlag zusammengeballt hat, die Fällung auf Vollständigkeit geprüft und dann in der Kälte absitzen gelassen. Nach dem Absaugen in ein PREGL'sches Filterröhrchen wird mit kaltem Wasser und Alkohol abwechselnd gewaschen, bei 110° getrocknet und nachher gewogen. Das in einer Saugeprouvette[7]) gesammelte Filtrat wird bei Zimmertemperatur mit Ammonazetat bis zum Verschwinden der Blaufärbung versetzt und das vorhandene Cu mit alkoholischer Salizylaldoximlösung nach der ursprünglich gegebenen Arbeitsvorschrift gefällt und bestimmt.

[6]) Österr. Chem.-Ztg., **21**, 73 (1918).
[7]) Mikrochemie **II**, 128 (1924).

1 cm³ $NiSO_4$-Lösung = 1,052 mg Ni.

	cm³	Auswaage mg	Gefunden mg	Berechnet mg	Δ mg
Cu	1	3,486 $(C_7H_6O_2N)_2Cu$	0,660 Cu	0,660 Cu	± 0,0 Cu
Ni	0,5	2,607 $C_8H_{14}N_4O_4Ni$	0,530 Ni	0,526 Ni	+ 0,004 Ni
Cu	0,1	0,375 $(C_7H_6O_2N)_2Cu$	0,071 Cu	0,066 Cu	+ 0,005 Cu
Ni	1	5,167 $C_8H_{14}N_4O_4Ni$	1,050 Ni	1,052 Ni	— 0,002 Ni
Cu	1,5	5,245 $(C_7H_6O_2N)_2Cu$	0,994 Cu	0,990 Cu	+ 0,004 Cu
Ni	0,1	0,546 $C_8H_{14}N_4O_4Ni$	0,111 Ni	0,105 Ni	+ 0,006 Ni

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit zeigt, daß das von F. Ephraim gefundene Salizylaldoxim eine wertvolle Bereicherung des Reagenzienschatzes der quantitativen Mikroanalyse ist.

Es erscheint mir als angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. F. Ephraim, Vorstand des Instituts für anorganische Chemie an der Universität Bern, für die Überlassung der mikrochemischen Ausarbeitung seiner Methode der Kupferbestimmung, sowie Herrn Dozenten Dr. R. Strebinger, Leiter des Laboratoriums für Mikroanalyse an der Technischen Hochschule Wien, für die stete Förderung meiner Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Ein lichtstarkes Fluoreszenzmikroskop.

Von **Max Haitinger**, Wien.

Aus dem II. Physikalischen Institut der Universität Wien (Spektroskopische Abt.).

(Eingelangt am 10. April 1931.)

In der Mikrochemie[1]) habe ich ein einfaches Fluoreszenzmikroskop beschrieben. Der leitende Gedanke war damals, die mikroskopische Beobachtung von Fluoreszenzerscheinungen mit einfachen, in jedem Laboratorium selbstverständlich vorhandenen Mitteln zu ermöglichen. Deshalb habe ich auch, dem Beispiele P. W. DANCKWORTT's[2]) folgend, die vielfach verbreitete Analysenlampe der Hanauer Quarzlampengesellschaft als Lichtquelle verwendet. Das durch einen, bezw. zwei mit verdünnter Kupfervitriollösung gefüllte Rundkolben (Schusterkugel) konzentrierte Licht beleuchtet das Präparat derart, daß dieses im auffallenden, bezw. durchfallenden Licht beobachtet werden konnte. Später hat P. METZNER[3]) gleichfalls die Schusterkugel zur Lichtkonzentration der Quecksilberdampflampe verwendet; er beobachtet im auffallenden Licht und beleuchtet das Präparat mit einem mit dem Objektiv verbundenen Parabolspiegel aus Metall.

Wenn sich diese Versuche die Verwendung der Quecksilberlampe und die Konzentration ihres Lichtes zum Ziele setzten, so wurden anderseits fluoreszenz-mikroskopische Anordnungen mit Bogenlampen unter Verwendung von imprägnierten Dochtkohlen empfohlen. Sowohl P. METZNER[4]) als auch O. VODRAZKA[5]) verwenden hierzu einfache Mikroskopierlampen.

Die Beobachtungsresultate waren aber – wenn es sich nicht nur

[1]) Mikrochemie, VIII, 81, 1930.

[2]) P. W. DANCKWORTT, Die Luminiszenz-Analyse im filtrierten ultravioletten Licht, 2. Aufl., Leipzig 1929, Akademische Verlagsgesellschaft.

[3]) P. METZNER, Biologia Generalis, 6, 415, 1930.

[4]) l. c.

[5]) O. VODRAZKA, Mikrokosmos, **24**, 47, 1930.

um eine allgemeine Orientierung handelt — nicht zufriedenstellend. Es zeigte sich bald, daß solche Anordnungen strengeren Anforderungen nicht standhalten konnten. Schwache Fluoreszenzen wurden nicht sichtbar, auch bei sonst stark fluoreszierenden Substanzen blieb manchmal der erwartete Effekt aus. So konnte ich die rote Fluoreszenz des Chlorophylls bei Algen oft gar nicht erkennen, manchmal war sie nur schwach angedeutet. Besonders bei histologischen Präparaten versagten solche Improvisationen gewöhnlich. Versuche mit der Quecksilberpunktlampe, bei der ein 1 bis 2 mm langer Lichtbogen zwischen einer Wolframanode und einer Quecksilberkathode ausgebildet wird, führten zwar zu besseren Ergebnissen. Leider ist sie leicht zerbrechlich, bedarf einer sehr sorgfältigen Behandlung und besitzt nur eine kurze Lebensdauer.

Es scheint mir, daß bei all diesen Versuchen auf das Wesentlichste vergessen wurde.

Die Quecksilberdampflampe besitzt zwar den Vorteil der großen Gesamthelligkeit, die durch das Brennerrohr von 11 cm Länge und 1·5 cm Lichtsäulenbreite ausgestrahlt wird, aber ihre Flächenhelligkeit ist eine kleine; und auf diese kommt es bei der Beleuchtung mikroskopischer Präparate an; wird doch durch den Kondensor die Lichtquelle im Präparat abgebildet, und nur Licht, welches das Präparat passiert, wird zur Erzeugung des Bildes im Mikroskop verwendet; ebenso wird das Fluoreszenzlicht nur durch jenes Ultraviolett erregt, welches das Präparat trifft. Da nun die Helligkeit des Fluoreszenzlichtes, wie bekannt, wesentlich von der Helligkeit des einfallenden Lichtes abhängt, so muß getrachtet werden, mit allen Mitteln einen möglichst großen Teil des zur Verfügung stehenden Ultravioletts zur Beleuchtung und Fluoreszenzerregung in das Präparat zu bringen. Es ist also klar, daß es nicht sosehr darauf ankommt, besonders für die Zwecke der Mikroskopie, eine möglichst helle Lichtquelle zu verwenden, sondern eine Lichtquelle mit möglichst großer Leuchtdichte. Man könnte zwar die Quecksilberlampe sehr leicht zu größerer Leuchtdichte bringen, wenn eine Einrichtung getroffen würde, sie end one zu Beobachtungszwecken zu benützen. Eine derartige Lampe existiert aber nicht. Es ist daher notwendig, eine Lichtquelle größerer Flächenhelligkeit auf einem anderen Wege zu

suchen; in dieser Beziehung bietet sich unmittelbar der elektrische Lichtbogen dar. Doch scheint mir der Weg, den man bisher gegangen ist, indem man Kohlen mit entsprechender Imprägnierung zwecks Steigerung der Ultraviolettintensität verwendete, nicht der richtige zu sein. Eine solche Lampe liefert wohl sichtbares Licht großer Intensität, dieses aber im Wesen nur durch die Strahlung des Kraters; eine solche ist aber für den hier beabsichtigten Zweck ganz irrelevant. Eine Spektralaufnahme einer gewöhnlichen Bogenlampe lehrt nämlich, daß sie zwar im sichtbaren Teil des Spektrums eine große Intensität des kontinuierlichen Lichtes liefert, daß aber das emittierte Ultraviolett so lichtschwach ist, daß schon von $\lambda = 390\,\mu\mu$ das kontinuierliche Licht des Kraters gegenüber der Emission des Bandenspektrums des Bogens und der Linien der Verunreinigungen verschwindet. Eine Bogenlampe mit reiner Kohle liefert kein Ultraviolett. Man muß vielmehr die Kohle mit Metallsalzen imprägnieren, um in der zusätzlichen Helligkeit des Bogens Ultraviolett durch die Emission der zugesetzten Substanzen zu gewinnen. Da aber der Energieaufwand des elektrischen Stromes der Hauptsache nach für die Erhaltung der Kraterhelligkeit verwendet wird, ist der auf das Ultraviolett entfallende Teil begreiflicherweise klein. Außerdem hat der Kohlenbogen auch bei imprägnierten Kohlen den Nachteil größerer Wärmeentwicklung, weiters den Nachteil, daß er sehr viel sichtbares, die Fluoreszenzbeobachtung störendes Licht liefert. Übrigens ist auch der große Verschleiß an Kohle und die Notwendigkeit einer automatischen Reguliervorrichtung zuungunsten der Verwendung von Kohlenbogenlampen zu werten. Schon längst aber werden für die Zwecke spektraler Untersuchungen Bögen zwischen reinen Metallelektroden verwendet. Und aus solchen Spektraluntersuchungen folgt, daß die Helligkeit und Zahl der emittierten Linien bei Metallelektroden wesentlich höher ist als bei imprägnierten Kohlen. Es ergibt sich daraus zwingend, daß als Ersatz der Quecksilberdampflampe nur Bogenlampen mit Metallelektroden in Frage kommen.

Ich habe nun an Hand der Spektraltafeln von F. Exner und E. Haschek[6]) versucht, jenes Element zu finden, das sich am

[6]) Die Spektren der Elemente bei normalem Druck. 2. Aufl., 1911, Leipzig und Wien, F. Deuticke.

besten als Elektrode für eine Lichtquelle eignet, die fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen ermöglichen soll.

Für die Wahl der Elektroden ist die Ultraviolettemission in jenem Wellengebiete maßgebend, für welches die üblichen Schwarzglasfilter (SENDLINGER-Filter UG 1 und UG 2 von SCHOTT und Gen. etc.) durchlässig sind, das ist das Gebiet zwischen 3000 und 4000 ÅE.

In den Spektraltafeln von F. EXNER und E. HASCHEK sind die Intensitäten nach der ROWLAND'schen Intensitätsskala mit

	Intensität zwischen			Hiervon gehen durch ein Schwarzglasfilter von 1 — 2 mm Dicke				Zahl der Linien	
	2000 — 8000 A°E	3000 — 4000 A°E		Rowland-Einheiten		% der Gesamt-Intensität			
	in Rowland-Einheiten		in % der Gesamt-Intensität	1 mm	2 mm	1 mm	2 mm	zwischen 2000 u. 4000 A°E	zwischen 3000 u. 4000 A°E
Ag	987	811	82	600	389	60	38	46	10
Al	2730	2611	95	460	55	16	2	28	8
Cd	1431	882	68	702	600	49	41	38	11
Ce	3902	1209	31	725	566	18,5	14,5	2894	878
Co	4349	1715	39	1114	873	25	20	1830	654
Cr	3459	1059	30	607	486	17,5	14	1697	583
Cu	3888	2700	69	1850	1260	47	32	1368	187
Fe	7554	3001	40	1962	1507	26	20	2390	868
Hg	2905	895	31	390	276	13,5	9,5	78	25
Mn	2235	535	24	321	245	14	11	865	290
Mo	5788	2097	35	1293	1012	22	17,5	3390	1351
Ni	3036	1238	40	918	736	30	24	976	309
Pb	3628	2010	55	1871	1574	49	41	46	10
Th	3026	1295	42	821	633	27	21	2316	1228
Ti	3058	1198	39	697	540	22,5	17	1120	440
U	5743	2595	45	1578	1154	27,5	20	4940	2396
W	4804	1405	29	838	630	17,5	13	3254	997
Zr	2304	824	35	469	364	20	15,5	1070	536

Werten von 1 bis 1000 bezeichnet. Durch Berechnung des perzentuellen Anteiles dieses Wellenbereiches an der Gesamtintensität erhält man, wenn auch keine absoluten, so doch für die Beurteilung des Ultraviolettreichtums der Elemente gut brauchbare Vergleichswerte. In der folgenden Tabelle ist die Gesamtemission in R. E., dann jene zwischen 3000 und 4000 ÅE und der durch das Schwarzglasfilter von 1, bezw. 2 mm hindurchgehende Anteil in R. E. und in Prozenten der Gesamtintensität verzeichnet. Da die Durchlässigkeit des Schwarzglases zwischen 3000 und 3100 ÅE einerseits und 3900 bis 4000 ÅE anderseits eine sehr geringe ist, wurde nur das Gebiet zwischen 3100 bis 3900 ÅE berücksichtigt. Dabei zeigt sich, daß Aluminium, welches den größten Ultraviolettreichtum zwischen 3000 und 4000 ÅE besitzt, fast keine Strahlen emittiert, die durch das Schwarzglasfilter hindurchgehen.

Nach fallendem Prozentsatz an ultraviolettem Licht, das durch ein Schwarzglasfilter hindurchgeht, geordnet, ergibt sich folgende Reihenfolge der Elemente:

Ag, Cd, Pb, Cu, Th, Ni, Fe, Co, U, Mo, Ti, Zr, Ce, Cr, W, Mn, Hg. Von diesen kommen aber für eine allgemeine Verwendung Cd, Cu, Mo, Ni, Pb und U schon deshalb nicht in Betracht, weil ihre Oxyde giftig oder wenigstens hygienisch nicht einwandfrei sind. Ein Teil derselben, wie Th, Ce, Zr, U, sind im regulinischen Zustand praktisch nicht erhältlich und andere wieder, wie Ag, Ca und Pb, emittieren ebenso wie das Hg nur sehr wenige Linien im Wellenbereich 3000 bis 4000 ÅE in stärkerer Intensität.

Ich habe gefunden, daß von allen in Frage kommenden Elementen das E i s e n das geeignetste Elektrodenmetall ist; es besitzt sehr starken Ultraviolettreichtum und sein Spektrum ist im fraglichen Gebiet sehr linienreich.

Der Versuch, die für spektralanalytische Zwecke verwendete Bogenlampe mit Eisenelektroden auch als Lichtquelle für das Fluoreszenzmikroskop zu verwenden, gelang nicht ohne weiteres; der Bogen ist unruhig, er wandert auf der Elektrodenoberfläche hin und her, das Licht flackert. Außerdem setzt sich an der negativen Elektrode in Form von Zunder Eisenoxyd ab, was das Wiederzünden nach dem Erkalten der Elektroden erschwert, ja oft unmöglich macht. Der Lichtbogen konnte dadurch beruhigt werden,

daß Vorsorgen für eine bessere Kühlung getroffen wurden. Dies wurde in einfacher Weise dadurch erreicht, daß die Elektroden möglichst kurz gehalten und in ein mit Rippen versehenes Kühlfutter aus Messing eingesetzt wurden (Abb. 1 und 4). Durch Verwendung von zentralgebohrten Elektroden und Füllung des Rohrkanals mit einem entsprechenden Material wurde die Zunderbildung so weit herabgesetzt, daß das Wiederzünden klaglos erfolgt. Übrigens wird durch diesen Docht der Ultraviolettreichtum nicht herabgesetzt, hingegen aber eine weitere Beruhigung des Bogens erzielt, so daß dieser zwar nicht vollkommen, aber doch hinreichend ruhig brennt, sowohl für die visuelle Beobachtung als auch für mikrophotographische Aufnahmen. Ein solcher Bogen brennt bei Gleichstrom mit 5 Ampere stundenlang vollkommen gleichmäßig, ohne einer Nachregulierung zu bedürfen.

Es war natürlich naheliegend, auch Eisenlegierungen in den Kreis der Untersuchungen zu ziehen, namentlich solche mit Metallen, welche sich nach den Spektraltafeln als günstig für den vorliegenden Zweck erweisen, wie Wolfram-, Nickel-, Chromnickel-, Molybdänstahl usw. Versuche mit derartigen Spezialstählen haben aber gezeigt, daß sie praktisch nicht in Frage kommen, und zwar deshalb, weil ihr Bogen immer unter lebhaftem Funkensprühen brennt. Da hierbei glühende Partikelchen ziemlich weit weggeschleudert werden, so sind Linsen, Filter usw., die in der Nähe des Bogens stehen, gefährdet; außerdem brennt ihr Bogen sehr unruhig, und es ist mir nicht gelungen, ihn zu beruhigen, so daß trotz merklichen Helligkeitsgewinnes die Verwendung solcher Elektroden nicht nur keinen Vorteil bietet, sondern sich wegen des flatternden Lichtes für die Verwendung am Mikroskop, und zwar ebenso für die subjektive Beobachtung wie für die Mikrophotographie, verbietet. Man könnte derartige Elektroden wohl bei Verwendung von ultraviolettdurchlässigen Linsen entsprechender Größe und Brennweite benützen, sobald es sich darum handelt. Flächen von mehreren Quadratzentimetern Größe für makroskopische Beobachtungen zu belichten.

Um die Lampe zum Mikroskopieren verwenden zu können, muß das Licht durch eine Kollektorlinse aus Quarz oder ultraviolettdurchlässigem Glas konvergent gemacht werden, ein

Schwarzglasfilter, dann eine Küvette mit Kupfervitriollösung[7]) passieren und auf den Spiegel des Mikroskops geleitet werden. Die Flächenhelligkeit ist eine derartige, daß für gewöhnlich die Reflexionsverluste am Silberglasspiegel nicht sonderlich ins Gewicht fallen, wenn derselbe aus ultraviolettdurchlässigem Glas hergestellt ist. Es kann auch ein Spiegel aus Ultraviolett besonders reflektierendem Material, wie etwa chromiertem Eisen, verwendet werden. Das vom Spiegel reflektierte Licht wird durch einen Dunkelfeldkondensor aus Quarz oder ultraviolettdurchlässigem Glas auf das Präparat geleitet. Durch die Zentralblende dieses Kondensors, den O. HEIMSTÄDT[8]) angegeben hat und den die Firma Optische Werke C. Reichert, Wien, im Jahre 1911 für das erste Fluoreszenzmikroskop verwendet hat, wird der mittlere Teil des Strahlenbündels abgeblendet und von der Frontlinse des Mikroskops abgehalten; immerhin dringt noch so viel ultraviolettes Licht in das Mikroskop ein, daß — namentlich für photographische Aufnahmen — ein Sperrfilter am Okular angebracht werden muß. Ich verwende hierzu ein kombiniertes Filter, das alles Ultraviolett von 3000 bis 4000 ÅE absorbiert. Es ist nahezu farblos und zeigt das Farbenbild unverändert. Abb. 1 zeigt die mitt-

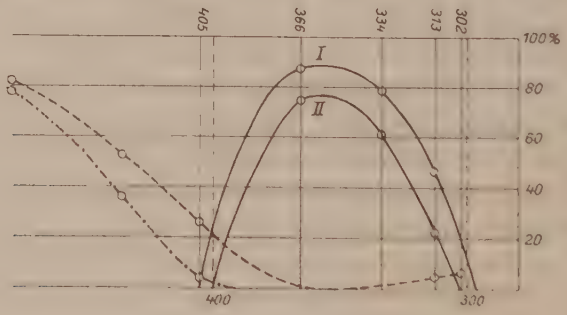


Fig. 1.

leren Durchlässigkeitskurven der üblichen Schwarzglasfilter und jene des Sperrfilters, verglichen mit dem Euphosdeckglas.

Das Instrument gestattet die Verwendung jeder Vergrößerung; für starke Vergrößerungen kann man durch Kippen des Mikro-

[7]) Dies deshalb, um den geringen Anteil des sichtbaren Rots, das die Schwarzglasfilter noch durchlassen, zu absorbieren.

[8]) Ztschr. wissensch. Mikroskopie, 28, 330, 1911.

Max Haitinger, Ein lichtstarkes Fluoreszenzmikroskop

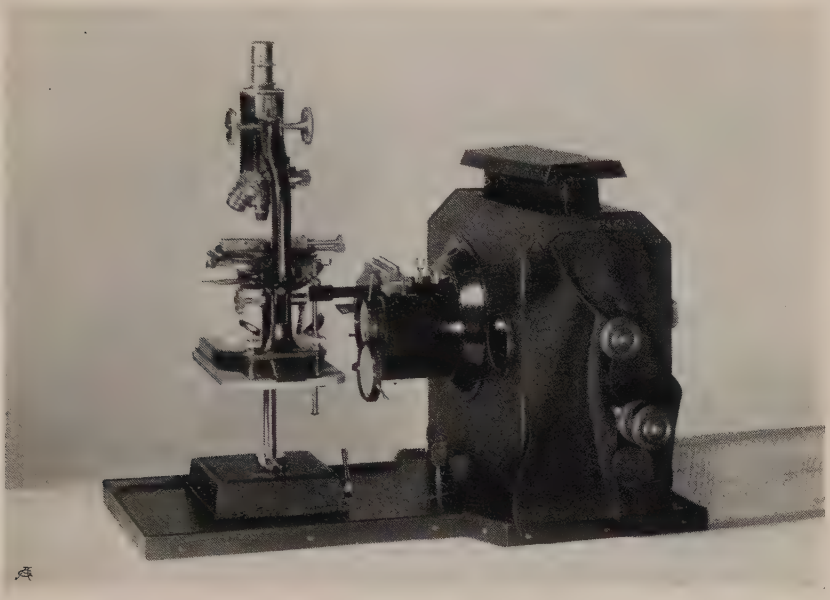


Fig. 1.

Fig. 2.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

Max Haitinger, Ein lichtstarkes Fluoreszenzmikroskop

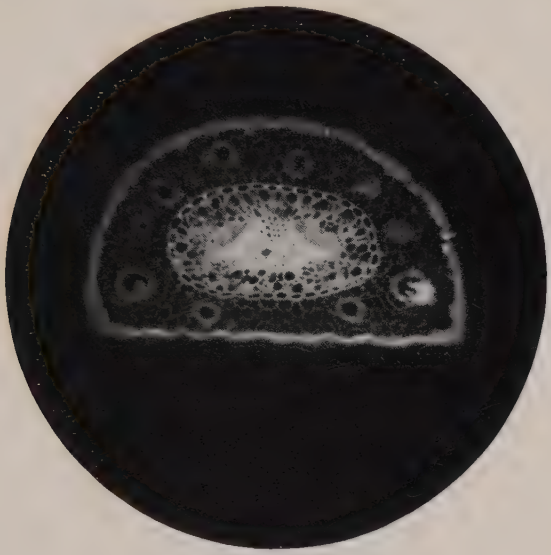


Fig. 3.

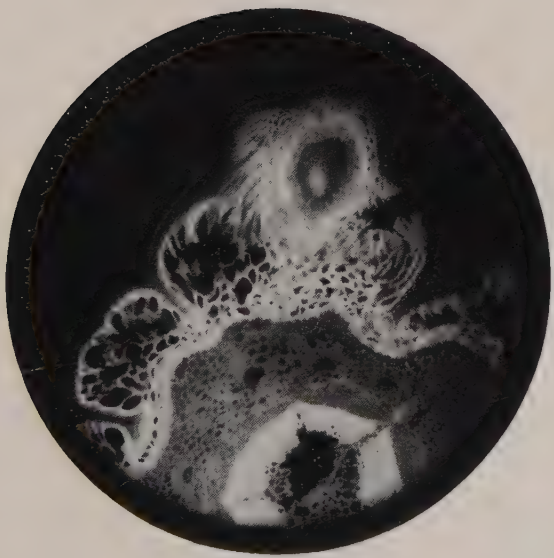


Fig. 4.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

Max Haitinger, Ein lichtstarkes Fluoreszenzmikroskop

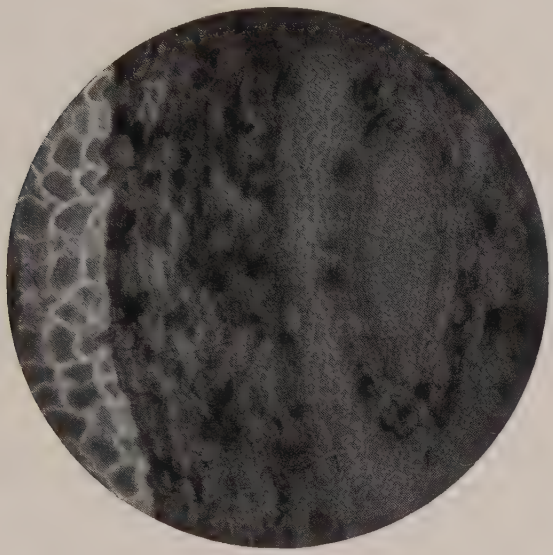


Fig. 5.

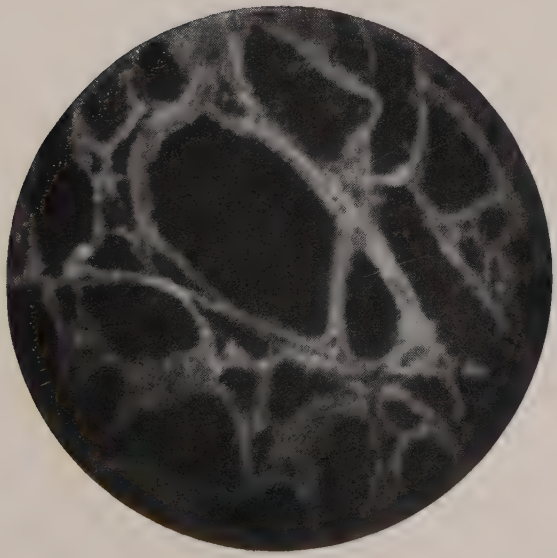


Fig. 6.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

Max Haitinger, Ein lichtstarkes Fluoreszenzmikroskop

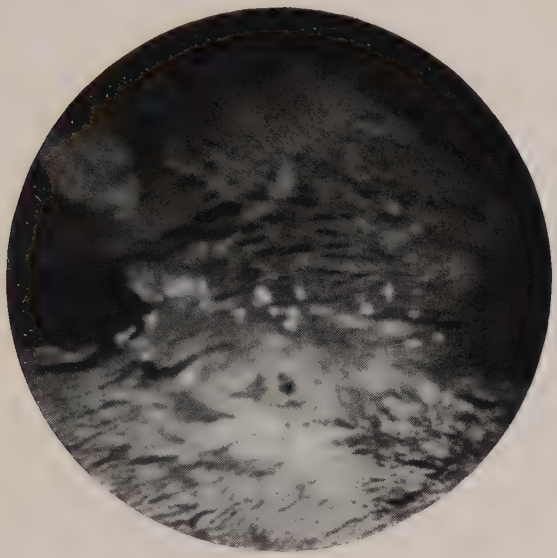


Fig. 7.

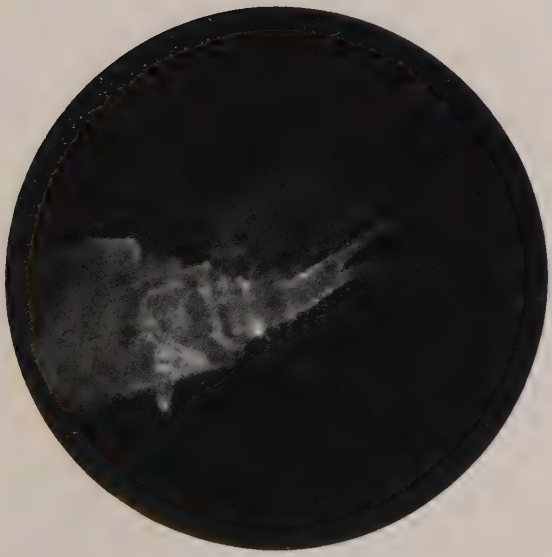


Fig. 8.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

Max Haitinger, Ein lichtstarkes Fluoreszenzmikroskop

Fig. 9.

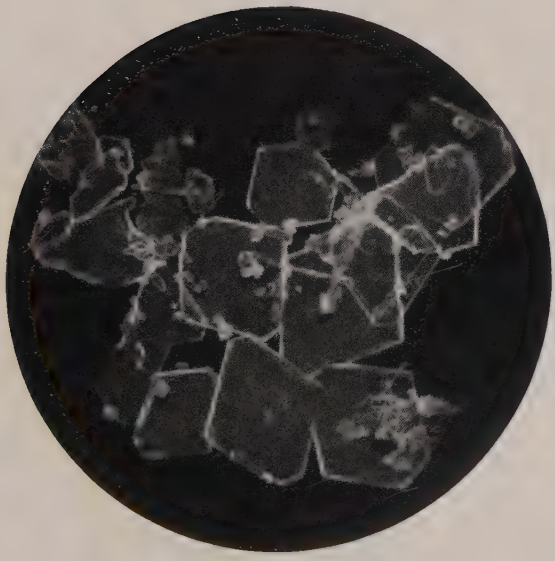


Fig. 10.

Verlag von **Emil Haim & Co., Wien und Leipzig**

skops und Zurückschlagen des Spiegels den Reflexionsverlust ausschalten. Man beobachtet dann mit horizontal gestelltem Rohr und gewinnt an Helligkeit. Das Schwarzglasfilter kann mit einer Opalglasscheibe vertauscht werden, um rasch von dem Eindrucke des Fluoreszenzbildes auf jenen im gewöhnlichen Licht übergehen zu können.

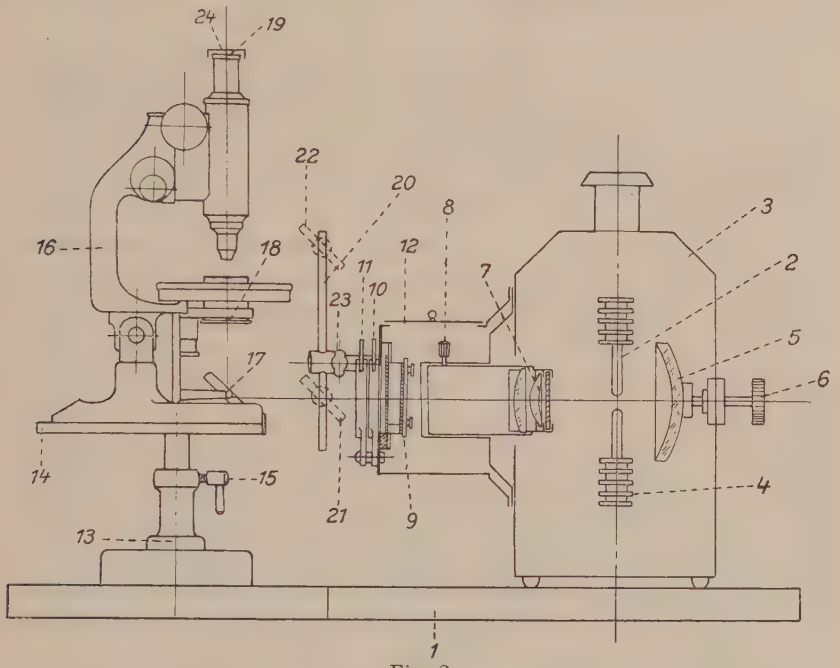


Fig. 2.

Abb. 2 zeigt schematisch die ganze Anordnung.

1 Grundbrett.
2 Lampe.
3 Lampenkasten.
4 Elektrodenhalter mit Kühler.
5 Reflektor.
6 Handgriff zum Verstellen des Reflektors.
7 Quarzkollektor.
8 Schneckenführung zum Verstellen des Kollektors.
9 Küvette mit Kupfersulfatlösung.
10 Schwarzglasfilter.
11 Opalscheibe zur Beleuchtung mit sichtbarem Licht.
12 Gehäusestutzen für Beleuchtungsvorrichtung.

13 Sockel für die Mikroskopbasisplatte.
14 Mikroskopbasisplatte.
15 Höhenverstellung für das Mikroskop.
16 Mikroskop.
17 Mikroskopspiegel.
18 Quarzdunkelfeldkondensor.
19 Sperrfilter.
20 bis 23 Periskopspiegelsystem.
24 Sperrfilter.

Die Beobachtung durchsichtiger Präparate erfolgt im allgemeinen mit Licht, das wie normal durch Spiegel und Kondensor dem Präparat zugeführt wird. Wenn auch der Umstand, daß die von den ultravioletten Strahlen direkt getroffene Fläche am stärksten fluoresziert, für die Beobachtung im auffallenden Licht zu sprechen scheint, halte ich es doch für vorteilhafter, das Mikroskop wie gewöhnlich zu verwenden. In den meisten Fällen dürfte die Fluoreszenzmikroskopie nur zur Ergänzung sonstiger mikroskopischer Beobachtungen dienen und nicht Selbstzweck sein: durch die Fluoreszenzfarben können Details erkannt werden, die im gewöhnlichen Lichte nicht zu sehen sind, und dadurch können unter Umständen die oft recht mühevollen und zeitraubenden Färbemethoden erspart werden; darin dürfte der wesentlichste Vorteil fluoreszenzmikroskopischer Beobachtungen zu suchen sein und deshalb soll von der üblichen Verwendungsart des Mikroskops nicht abgegangen werden; übrigens sind bei nicht zu dicken Präparaten kaum Unterschiede in der Fluoreszenzintensität bei Beobachtung im durchfallenden und im auffallenden Licht zu erkennen.

Undurchsichtige Präparate müssen natürlich im auffallenden Licht beobachtet werden; hierzu wird das Licht über zwei Spiegel auf die Oberfläche des Präparats geleitet (Periskopspiegel, Abb. 2).

Das Mikroskop kann für die Beobachtung mit normaler Optik versehen sein; für photographische Aufnahmen erwies sich die Verwendung von Apochromaten und Kompensationsokularen notwendig.

Die Objektträger müssen aus fluoreszenzfreiem Glas sein. Deckgläser sind die gewöhnlichen.

Als Einbettungmaterial können die üblichen soweit verwendet werden, als sie selbst nicht fluoreszieren, also Wasser, Glyzerin, Chloroform usw. Kanadabalsam, Paraffin, Zedernöl fluoreszieren

selbst und sind daher unbrauchbar. In den meisten Fällen habe ich mit Glyzerin das Auslangen gefunden; doch gibt es Fälle, wo die fluoreszierende Substanz in den gewöhnlichen Einbettungsmitteln löslich ist; das Präparat sieht dann wie mit einer Farbstofflösung übergossen aus; da muß dann in jedem einzelnen Falle nach dem geeigneten Einbettungsmittel gesucht werden. Für Schnitte von Fraxinus und Aesculus, die in diese Kategorie gehören, habe ich in Paraffinum liquidum, das als purissimum nicht fluoresziert, ein solches Mittel gefunden.

Um reine Fluoreszenzbilder zu erhalten, sollen die Präparate im Einbettungsmittel gut gewaschen werden, bis alle störenden Verunreinigungen entfernt sind; auch wiederholtes Umbetten hat sich bewährt.

Dauerpräparate müssen im Dunkel aufbewahrt werden, da die Fluoreszenz unter dem Einfluß des Lichtes in vielen Fällen zerstört wird; namentlich das Chlorophyll leidet unter dem Einfluß des Lichtes sehr stark.

Ich habe Gelegenheit gehabt, mit einem von der Firma C. Reichert, Wien, zur Verfügung gestellten Apparat vergleichende Versuche durchzuführen und habe gefunden, daß nicht nur die Helligkeit, sondern auch der Detailreichtum weitaus größer sind als bei Verwendung der Quecksilberdampflampe; auch konnten Fluoreszenzerscheinungen beobachtet werden, die mit dieser nicht gesehen werden können, so z. B. das Chlorophyll der Algen oder Details bei histologischen Präparaten.

Auf den Tafeln VII bis XI sind die Kopien einiger mikrophotographischer Aufnahmen wiedergegeben. Die Expositionszeiten schwankten bei Verwendung strengster Sperrfilter zwischen 2 und 5 Minuten, was wohl für die Helligkeit der Fluoreszenz und somit auch der Lichtquelle spricht. Zur Aufnahme diente eine Reichertsche Romeis-Kamera, als Platten wurden hauptsächlich Lumière-Platten S. E. verwendet.

Auf eine Beschreibung der Fluoreszenz kann hier nicht weiter eingegangen werden. Es sei nur erwähnt, daß pflanzliche Präparate ein besonders farbenprächtiges Bild zeigen, so z. B. der Stamm von Rhus, Berberis, Cytisus oder Stengel von Aspidium, Pteris, der Blattnerv von Mahonia oder Láurocerasus oder ein Querschnitt durch eine Föhren- oder Fichtennadel. Histologische Präparate

zeigen zwar nicht diesen Farbenreichtum, dagegen eine Reihe von Details, die im gewöhnlichen Lichte nicht zu erkennen sind. Die Aufnahmedaten zu den reproduzierten Bildern finden sich in der Figurenerläuterung.

Ich hoffe, mit dieser Anordnung, deren Ausführung die Firma „Optische Werke C. Reichert", Wien, übernommen hat, eine brauchbare Apparatur zu fluoreszenzmikroskopischen Beobachtungen geschaffen zu haben, und hoffe, daß von diesem Hilfsmittel der Mikroskopie auch bei Forschungsarbeiten sowie in der Praxis mehr Gebrauch gemacht werden kann als bisher.

Schließlich möchte ich Herrn Professor E. Haschek, der mir durch seine wertvolle Unterstützung mit Rat und Tat einen neuerlichen Beweis langjähriger Freundschaft erbracht hat, herzlichst danken. Ebenso danke ich Herrn Dr. K. Reichert für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegenbrachte, und Herrn Dr. M. Zippermayr für die wertvolle Unterstützung bei der Herstellung der Mikroaufnahmen.

Tafelerklärung.

Fig. 1. Ansicht des Fluoreszenzmikroskops. Die Aufnahme der hier reproduzierten Bilder erfolgte mit der Romeis-Kamera von C. Reichert, Wien, und mit Lumière-Platten S. E. Wo nicht eine andere Optik angegeben ist, wurde ein Reichert-Apochromat, 16 mm, und Kompensationsokular Nr. 4 verwendet.

Fig. 2. Berberiszweig. (Belichtungszeit 2 Minuten, Vergrößerung 45fach.)

Fig. 3. Pinusnadel. (Belichtungszeit 2 Minuten, Vergrößerung 45fach.)

Fig. 4. Piceazweig. (Belichtungszeit 2 Minuten, Vergrößerung 45fach.)

Fig. 5. Rhus, quer. (Belichtungszeit 5 Minuten, Vergrößerung 420fach, Reichert-Apochromat, 4 mm, Kompensationsokular Nr. 4.)

Fig. 6. Menschliche Schilddrüse. (Belichtungszeit 2 Minuten, Vergrößerung 45fach.)

Fig. 7. Menschliche Aorta mit Kalkablagerungen. (Belichtungszeit 2 Minuten, Vergrößerung 45fach.)

Fig. 8. Cyclops. (Belichtungszeit 1 Minute, Vergrößerung 75fach, Reichert-Polar, 20 mm, Kompensationsokular Nr. 4.)

Fig. 9. Daphnium. (Belichtungszeit $1^1/_2$ Minuten, Vergrößerung 20fach, Reichert-Achromat 1a, Huyg. 2.)

Fig. 10. Anthrazenkristalle im auffallenden Licht. (Belichtungszeit 1 Minute, Vergrößerung 50fach.)

Die histologischen Präparate (Fig. 6 und 7) verdanke ich Herrn Prof. R. Wasicky und Frau Dr. G. Rotter des Pharmakognostischen Instituts der Universität Wien.

Versuch einer quantitativen Bestimmung der Farbe und Intensität von Fluoreszenzerscheinungen.

Von **Max Haitinger**, Wien.

Aus dem II. Physikalischen Institut der Universität Wien (Spektroskopische Abteilung).

(Eingelangt am 13. April 1931.)

Bei der Beschreibung von Fluoreszenzerscheinungen bereitet die Bezeichnung der Farbe und Intensität immer große Schwierigkeiten. Es ist sehr vom subjektiven Empfinden des Beobachters abhängig, welche Bezeichnungen, Vergleiche usw. gewählt werden. Es wurden deshalb wiederholt Versuche gemacht, diese Angaben genauer zu präzisieren; hierzu wurden teils allgemein gebräuchliche Apparate, wie Spektralphotometer, Nephelometer und Kolorimeter, oder eigens für diesen Zweck konstruierte Instrumente verwendet. Sehr geeignet für diesen Zweck ist das Stufenphotometer, das infolge seiner Ausstattung mit einer Reihe von Nebenapparaten universell verwendbar ist und in vielen wissenschaftlichen und technischen Laboratorien Eingang gefunden hat. Es berichteten W. Sprösser[1]) und H. P. Kaufmann[2]) über die Brauchbarkeit dieses Instruments bei der Untersuchung von Fetten, A. Janke und H. Lacroix[3]) verwendeten es zur Bestimmung der Fluoreszenzintensität der Gärungsessige, und vor kurzem haben E. Beutel und A. Kutzelnigg[4]) bei ihren Studien über die Fluoreszenz der Erdalkalimetalle versucht, auch den

[1]) Chemische Umschau, Fette, Öle, Wachse, **35**, 325, 1928.
[2]) Ebenda, **36**, 34, 1929, und Ztschr. angew. Chem., **41**, 325, 1928.
[3]) Monatsh. Chem., **57**, 15, 1931.
[4]) Monatsh. Chem., **57**, 15, 1931.

Farbton durch Ablesungen an der Meßtrommel des Stufenphotometers zu definieren.

Die Firma Carl Zeiss hat dem Stufenphotometer eine Zusatzapparatur beigegeben, die auf die Verwendung der Analysenlampe der Hanauer Quarzlampengesellschaft abgestimmt ist; eine solche wurde auch bei den hier beschriebenen Versuchen verwendet; da für das Stufenphotometer, wie für alle Photometer, eine Vergleichslichtquelle benötigt wird, von der vor allen Dingen Unveränderlichkeit verlangt werden muß, liefert die Firma Zeiss eine Uranglasplatte, die im Lichte der Quecksilberlampe in dem bekannten Gelbgrün aufleuchtet. Die Verwendung fluoreszierender Substanzen, somit auch des Uranglases, als Vergleichsnormale ist nicht ganz unbedenklich, weil solche Substanzen erfahrungsgemäß unter dem Einflusse des ultravioletten Lichtes Veränderungen in bezug auf Farbton und Intensität unterliegen; wenn wohl bisher keine Berichte vorliegen, daß auch das Uranglas seine Fluoreszenz ändert, so bleiben doch diese Bedenken bestehen. Ein wesentlicher und sofort fühlbarer Mangel ist aber der, daß das Uranglas gelbgrün fluoresziert und daher im Blau und Violett nur sehr geringe Intensitäten liefert: Beutel und Kutzelnigg haben diesen Mangel auch empfunden und suchen nach einem anderen Stoff, der als Bezugsnormale geeignet wäre.

Ich halte es für vorteilhaft, auf eine fluoreszierende Substanz hierfür zu verzichten und weißes Lampenlicht zum Vergleiche heranzuziehen; dieses wird von einer Barytweißplatte widergestrahlt, die von einem Glühlämpchen beleuchtet wird, das ein Tageslichtfilter passiert hat. Ich verwende seit längerer Zeit für vergleichende Intensität- und Farbbestimmungen eine Anordnung, die in Fig. 1 skizziert ist. Die Anregung hierzu verdanke ich Herrn Professor E. Haschek, der eine ähnliche Anordnung zu anderen Zwecken im II. Physikalischen Institut der Universität Wien verwendet hat.

Das Gehäuse, in welches diese Anordnung eingeschlossen ist, kann wie alle Zusatzapparate in einen Rohrstutzen des Stufenphotometers eingeschoben und mit der Überfangmutter festgeschraubt werden.

An dem abnehmbaren Boden B des Rohres I ist eine 10-Volt-

Lampe angebracht, die durch einen Akkumulator gespeist wird; die Lichtstrahlen werden durch eine Linse parallel gerichtet, passieren dann ein Tageslichtfilter[5]) und beleuchten die Barytweißplatte Ba, die durch die Röhre II beobachtet wird.

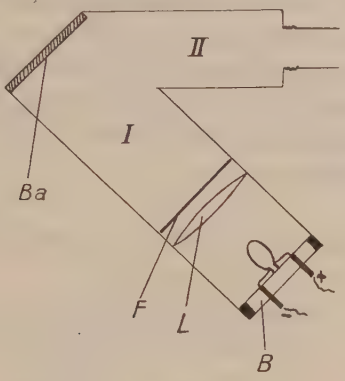


Fig. 1.

An den anderen Rohrstutzen wird bei der Untersuchung fester Stoffe das Zwischenrohr von 20 cm Länge und ein Objektiv, f = = 30 cm, bei Beobachtung von Flüssigkeiten ein Flüssigkeitsprüfer befestigt.

Man photometriert dann in der üblichen Weise, indem man die mit den Proben gefüllten Gefäße auf einen geeigneten Träger unterhalb der Mitte des Filters schräg aufstellt, mit horizontal gestelltem Instrument; Flüssigkeiten werden in durchfallendem Lichte hinter dem rückwärtigen Fenster der Analysenlampe beobachtet.

Da das Fluoreszenzlicht immer farbig, das Vergleichslicht aber weiß ist, kann nicht direkt photometriert werden; man muß vielmehr unter Zwischenschaltung von Filtern, die von der Firma Zeiss als „L"- und „S"-Filter geliefert werden, auf gleiche Helligkeit einstellen; von diesen absorbieren die „S"-Filter bei den oft lichtschwachen Fluoreszenzen zu viel Licht, weshalb man sich im allgemeinen mit den „L"-Filtern begnügen muß.

Aus den Ablesungen an der Meßtrommel erhält man dadurch drei Werte, die unter den gegebenen Verhältnissen — aber nur unter

[5]) Für die Beistellung dieses Filters bin ich Herrn Dr. Weisz der Firma „Lumina", Sicherheitsglas Ges. m. b. H., in Wien zu Dank verpflichtet.

diesen — das Fluoreszenzlicht charakterisieren; diese Werte sind nicht reproduzierbar und nur scheinbar quantitative Angaben; sie ändern sich mit der Änderung des Aufstellungsortes unter der Lampe; eine kleine Verschiebung genügt, um ganz andere Ablesungen zu erhalten. In den folgenden Tabellen sind zur Illustration des Gesagten die Ablesungen bei verschiedenen Stellungen der Proben unter der Lampe wiedergegeben. Die mitgeteilten Werte sind natürlich Mittelwerte aus mehreren Ablesungen; ein der Ziffer beigesetztes „P" bedeutet, daß die Ablesung auf der Seite der Probe gemacht wurde.

Tabelle I.

Photometerablesungen bei Verschiebung der Probe.

Versuch I.

Vergleichsnormale: Uranglas Probe: Salicylsaures Natron	Aufstellung der Probe und des Uranglases		
	A symmetrisch unter der Brennermitte	B 5 mm gegen A nach links	C 5 mm gegen A nach rechts
		verschoben	
L_1 rot	4,8	5,5	4,2
L_2 grün	8,5	10,5	8,0
L_3 blau	1,5 P	1,09 P	0,8 P

Versuch II.

Vergleichsnormale: Barytweiß mit Glühlampe und Tageslichtfilter Probe: Salicylsaures Natron	Aufstellung der Probe		
	A unter dem Mittelpunkte des Filters	B 5 mm	C 10 mm
		gegen den Mittelpunkt in der Richtung der Brennerröhre verschoben	
L_1 rot	3,0	3,0	3,0
L_2 grün	68,0	67,0	65,2
L_3 blau	5,5 P	5,2 P	5,6 P

Die Zusammenstellung zeigt, daß die Ablesungen an der Meßtrommel keine charakteristischen Werte für die Bestimmung des Farbtones ergeben. Außer durch den Aufstellungsort werden die Werte, die sich durch Einstellung auf gleiche Helligkeit ergeben, noch durch den Energieverbrauch der Lampe, durch ihren Alterungszustand[6]) und durch die unvermeidlichen Unregelmäßigkeiten in den Quarzwänden[7]) beeinflußt.

Man erhält aber vergleichbare Werte, wenn man die Photometerablesungen auf Anteile an Rot, Grün und Blau umrechnet. Es ergeben sich so aus den mitgeteilten Ablesungen folgende prozentuelle Werte:

Bei Versuch I, bezogen auf Uranglas:

	A	B	C
L_1 rot	0,07%	0,06%	0,03%
L_2 grün	0,12%	0,11%	0,06%
L_3 blau	99,80%	99,82%	99,93%
	99,99%	99,99%	100,02%

Bei Versuch II, bezogen auf Barytweiß:

	A	B	C
L_1 rot	0,16%	0,16%	0,16%
L_2 grün	3,60%	3,36%	3,70%
L_3 blau	96,23%	96,47%	96,15%
	99,99%	99,99%	100,01%

Die einzelnen Werte stimmen für jede Versuchsreihe mit weitaus genügender Genauigkeit überein, nicht aber die Werte des Versuches I mit jenen von II. Dies ist wohl selbstverständlich, weil die Vergleichsnormalen in den beiden Fällen nicht identisch sind und naturgemäß die Photometerablesungen für das im Blau fast lichtlose Uranglas wesentlich höher sein müssen als für das Glühlampenlicht über Barytweiß. Es ist vollkommen hinreichend, wenn man die Angaben auf eine Dezimale abrundet. Denn einmal werden die Photometerablesungen zweier Beobachter schon wegen der

[6]) W. Meyn, Ztschr. wiss. Photogr., **25**, 345, 1923. — P. W. Cuncliff, R. G. Franklin, R. E. W. Madis, L. Reeve, Physical. Chem., **30**, 1427, 1926. — W. R. Atkus und H. H. Poole, Scient. Proceed. Rog. Dublin Soc., **19**, 335, 1926

[7]) T. Takahashi und L. H. Clark, Journ. scient. Instruments, **6**, 273, 2701, 1929.

verschiedenen Empfindlichkeit ihrer Augen differieren, dann aber ergeben auch dieselben Präparate verschiedener Provenienz nicht immer übereinstimmende Resultate. So sind z. B. die Mittelwerte zweier Proben von salycilsaurem Natron:

L_1 rot	0,2%	0,2%
L_2 grün	3,6%	4,2%
L_3 blau	96,2%	95,5%
	100,0%	99,9%

Die Summe aller drei Photometerablesungen ergeben ein relatives Maß für die Helligkeit, das so lange verwertbar bleibt, als die Bezugsnormale dieselbe ist. Man könnte auch diese Helligkeitsangaben leicht reproduzierbar machen, wenn man die oben beschriebene Vergleichslampe gegen eine Hefnerkerze mit den 3 Filtern photometriert. Durch die Wahl einer entsprechenden Einheit kann man dann die Fluoreszenzintensitäten verschiedener Substanzen miteinander vergleichen. Setzt man z. B. die Fluoreszenzintensität des salycilsauren Natrons = 1,0, so ergibt sich jene der Salicylsäure mit 0,3, die des Anthrazens mit 2,6 usw.

Man kann aber auch für die Charakterisierung des Farbtones ein graphisches Hilfsmittel heranziehen. In der Farbenlehre kann unter der Annahme der YOUNG-HELMHOLTZ'schen Theorie Nuance und Sättigung einer gegebenen Farbe durch einen Punkt im Farbendreieck definiert werden. Die Konstruktion geht von der Annahme aus, daß von der Empfindung „Weiß" die Grundempfindungen im gleichen Verhältnisse erregt werden, und daß zur Empfindung einer bunten Farbe die drei Grundempfindungen in einem diesem Farbton entsprechenden Verhältnisse erregt werden. Wenn man sich nun jene Anteile, in denen in der Gesamtempfindung die Grundempfindungen erregt werden, als Gewichte in den Eckpunkten des masselos gedachten Dreieckes angreifend denkt, so ergibt der eindeutig definierte Schwerpunkt dieser drei Kräfte den Ort der gewählten Farbprobe, der natürlich immer innerhalb der Dreieckfläche liegen muß. Diese Konstruktion kann in der Weise nachgeahmt werden, daß man anstatt der Grundempfindungsbeträge die prozentuellen Anteile, wie sie oben errechnet wurden, in den Eckpunkten des Dreieckes angreifen läßt. Man erhält dann

— wenigstens so lange, als sich die Filter des Stufenphotometers nicht ändern — eine ebenso präzise Darstellung der Farben wie im KÖNIG'schen Farbendreieck, und es wird vielleicht einmal möglich werden, diese Darstellung auf jene in den Grundempfindungen zurückzuführen.

Im KÖNIG'schen Farbendreieck, das gewöhnlich als gleichseitiges Dreieck konstruiert wird, ist der geometrische Schwerpunkt, das ist der Schnittpunkt der drei Höhen, der Ort des „Weiß", in dem hier angewendeten natürlich nicht. Es muß vielmehr eine mit weißem Lichte beleuchtete Barytweißplatte gegen die Vergleichsnormale unter Verwendung des „L"-Filters photometriert werden, um den Weißpunkt in dem Farbendreieck zu erhalten.

Zur Bestimmung des Farbtones einer fluoreszierenden Substanz in diesem Dreieck denkt man sich (Fig. 2) die aus den Photometer-

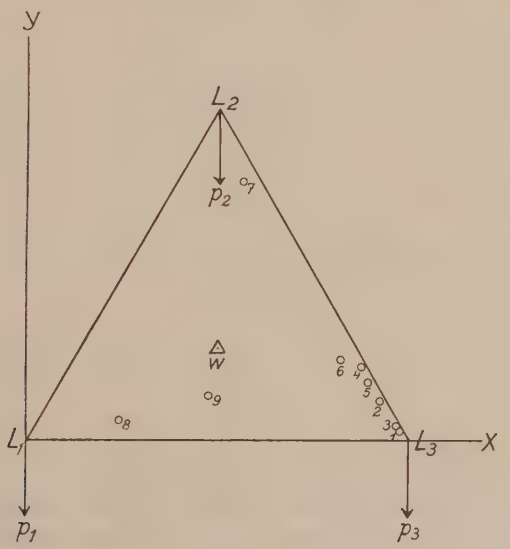


Fig. 2.

ablesungen errechneten prozentuellen Anteile p_1, p_2, p_3 als Gewichte an den Eckpunkten L_1, L_2, L_3 angebracht und durch den Punkt L_1 ein rechtwinkeliges Koordinatensystem derart gelegt, daß L_1, L_3 in die Richtung der X-Achse fällt; dann sind die Koordinaten für

$$p_1 \begin{cases} x_1 = 0 \\ y = 0 \end{cases} \quad p_2 \begin{cases} x_2 = \frac{s}{2} \\ y_2 = \frac{s}{2}\sqrt{3} \end{cases} \quad p_3 \begin{cases} x_3 = s \\ y_3 = 0 \end{cases}$$

wenn die Seitenlänge des Dreieckes mit s bezeichnet wird.

Der Schwerpunkt ist dann der gesuchte Farbpunkt. Er ist nach den Lehren der Mechanik bestimmt durch die Gleichungen:

$$x = \frac{p_1 x_1 + p_2 x_2 + p_3 x_3}{p_1 + p_2 + p_3}$$

und

$$y = \frac{p_1 y_1 + p_2 y_2 + p_3 y_3}{p_1 + p_2 + p_3}$$

Durch Einsetzen der oben errechneten Koordinaten erhält man

$$x = \frac{p_1 0 + p_2 \frac{s}{2} + p_3 s}{p_1 + p_2 + p_3}$$

und

$$y = \frac{p_1 0 + p_2 \frac{s}{2}\sqrt{3} + p_3 0}{p_1 + p_2 + p_3}$$

Da

$$p_1 + p_2 + p_3 = 100,$$

so wird, wenn auch $s = 100$ gewählt wird,

$$x = \frac{p_2}{2} + p_3$$

und

$$y = \frac{p_2}{2}\sqrt{3}.$$

In der nachstehenden kleinen Tabelle sind die errechneten Werte für einige Stoffe wiedergegeben. In der Rubrik „Ablesungen" bedeuten die oberen Werte die tatsächlichen Ablesungen, die unteren die Intensitäten in Prozenten der Vergleichsnormalen[8]). Die gefundenen Farbpunkte sind dann im Farbendreieck L_1, L_2, L_3 (Fig. 2) eingezeichnet.

[8]) Vgl. hierüber die Druckschrift der Firma Zeiss: Stufenphotometer, Mess., 430, 1928, Seite 8 bis 10.

Tabelle II.

Stoff	Ablesungen			Intensität	Relative Intensität	Perzentuelle Anteile			x	y	Fluoreszenzfarbe
	L_1	L_2	L_3			p_1	p_1	p_3			
Salicylsaures Natron	3,6	72,5	5,1 P	2037	1,000	0,2	3,6	96,3	98,1	3,1	violett
	3,6	72,5	1961								
Salicylsäure	8,15	75,75	18,75 P	616	0,302	1,3	12,3	86,0	92,5	10,6	hellviolett
	8,15	75,75	532,1								
Triphenylmethan	10,07	71,5 P	3,0 P	3484	1,710	0,3	4,0	95,7	97,7	3,5	violett
	10,07	139,8	3334								
Anthrazen	55,0	8,2	2,4 P	5442	2,625	1,0	22,4	76,6	87,8	19,4	blau
	55,0	1220	4167								
Methylhydrastinin	46,5	26,65 P	5,81 P	2143	1,052	2,2	17,5	80,3	89,1	15,1	blau
	46,5	375,3	1721								
Schwefelsaures Chinin	3,55	15,75	45,5	64,8	0,032	5,5	24,3	70,2	82,2	21,0	hellblau
	3,55	15,75	45,5								
Uranylnitrat	51,0	8,2 P	39,1 P	1527	0,749	3,3	79,9	16,8	56,7	68,0	gelb
	51,0	1220	255,8								
Manganhaltiger Kalkspat	11,75	1,00	3,4	16	0,008	72,8	6,2	21,0	24,2	5,4	hellrot
	11,75	1,00	3,4								
Schale von Hühnereiern	3,63	1,07	3,3	8	0,004	45,4	13,4	41,2	47,9	11,6	rot
	3,63	1,07	3,3								

Selbstverständlich kann man auch die Photometrierung gegen Spektralfarben bestimmter Wellenlängen durchführen und bekommt dann für jede Wellenlänge einen entsprechenden Punkt im Dreieck. Man erhält dann eine der Spektralkurve im KÖNIG'schen Farbendreieck ähnliche Kurve und gewinnt damit eine neue Definition für die Fluoreszenzfarbe. In dieser Richtung sind weitere Untersuchungen im Zuge.

Sammelreferat.

Die Erdalkalimetalle.

(Eingelangt am 4. Februar 1931.)

A. Qualitativer Teil.

Von **Kurt Heller**, Prag.

Literatur über die bis 1926 gesammelten Erfahrungen bezüglich des mikrochemischen Nachweises von Erdalkalimetallen: F. Emich (Mikrochemisches Praktikum, 1924, und Lehrbuch der Mikrochemie, 1926, Bergmann-Verlag, München) und A. Benedetti-Pichler (Mikrochemie, **6**, 113 bis 116, 1926, ferner Fortschritte der Mikrochemie von G. Klein und R. Strebinger, 1928, S. 217 bis 220, Verlag Deuticke, Wien).

Als vollkommen spezifische Methoden zur Erkennung der Erdalkalimetalle kommen nur der spektralanalytische Nachweis und der auf röntgenspektroskopischem Wege in Frage. Alle anderen bekannten Methoden verlangen eine mehr oder weniger weitgehende Trennung von anderen Elementen, besonders von den Schwermetallen, wobei als Trennungsmethoden die aus der Makrochemie übernommenen Verfahren angewandt werden. Zum Unterschied von den Alkalimetallen besitzen wir für den Nachweis der Erdalkalimetalle bereits eine Anzahl von spezifischen Reagenzien, mit deren Hilfe der Nachweis kleiner Mengen, in vielen Fällen auch ohne umständliche Trennung von Schwermetallen, gelingt. Solche Substanzen geben mit dem zu suchenden Element farbige, schwer lösliche Komplexverbindungen, welche, durch hauptsächlich von F. Feigl vorgeschlagene Tüpfel-, bezw. Anfärbereaktionen erzeugt, oft den Nachweis von Mikromengen gestatten. Eine erschöpfende Zusammenstellung dieses Arbeitsgebietes findet sich in dem eben erschienenen ausgezeichneten Buche von F. Feigl. Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, 1931, Aka-

demische Verlagsgesellschaft, Leipzig. Derartige spezifische Reagenzien sind besonders zahlreich für den Nachweis von

Magnesium vorgeschlagen worden. Das empfindlichste Reagens dieser Art dürfte das bereits erprobte (W. Böttger, Qualitative Analyse, 7. Aufl., S. 302, 1925, Engelmann-Verlag, Leipzig) Chinalizarin sein, das von F. L. Hahn, H. Wolf und G. Jäger (Ber., **57**, 1394, 1924) gefunden wurde und durch Verwendung der Zentrifuge einen Nachweis von 0,001 γ in 0,05 cmm gestattet (F. L. Hahn, Mikrochemie, Pregl-Festschrift, S. 127, 1929). Nach F. Feigl (Qualitative Analyse mit Hilfe von Tüpfelreaktionen, l. c., S. 243) lassen sich noch 0,25 γ Magnesium erkennen, wenn man nach Verrühren von 1 Tropfen der zu prüfenden Lösung mit 1 Tropfen destillierten Wassers und 2 Tropfen 10- bis 20%iger alkoholischer Chinalizarinlösung in der Vertiefung einer Tüpfelplatte 2-n. Natronlauge bis zum Umschlag in Violett tropfenweise zusetzt und dann noch $^1/_4$ bis $^1/_2$ des nunmehr erreichten Volums. Der kornblumenblaue Farblack unterscheidet sich noch deutlich von der blauvioletten Blindprobe, die beim Stehen verblaßt. Spezifischer, aber weniger empfindlich als Chinalizarin ist nach J. M. Kolthoff (Mikrochemie, Emich-Festschrift, S. 180, 1930) das Titangelb, welches auch von E. Eegriwe (Ztschr. f. anal. Chemie, **76**, 355, 1929) empfohlen wurde. Die Bildung eines feuerroten Farblackes gestattet den Nachweis von 1,5 γ Mg bei Ausführung einer Tüpfelreaktion auf Porzellan. Als Reagenzien werden eine 0,1%ige wäßrige Titangelblösung und 0,1 n. Natronlauge verwendet. Die Ausführung der Reaktion erfolgt auf der Porzellantüpfelplatte (F. Feigl, l. c.). H. D. Barnes (Journ. South. African, **11**, 67, 1928, durch Chem. Ztrbl., **1929**, II., 196) überprüft den dem Titangelb homologen Farbstoff Claytongelb und gibt wie J. M. Kolthoff (Chem. Weekbl., **24**, 254, 1927, durch Chem. Ztrbl., **1927**, II., 142) an, daß die Reaktion bei Gegenwart von Calciumionen empfindlicher wird. Eegriwe (l. c.) und Kolthoff (l. c.) untersuchten eine Reihe anderer Azofarbstoffe auf ihre Verwendbarkeit als Magnesiumreagens. Nach Eegriwe sind die Disazofarbstoffe, wie Toluylenorange, Benzopurpurin und Azoblau, in Abwesenheit von Nickel und Kobalt spezifisch für Magnesium; sein Nachweis wird aber durch gefärbte Kationen (besonders Chrom) stark ge-

stört. Nach meiner eigenen Erfahrung lassen sich noch 0,8 (0,4) γ Magnesium mit Benzopurpurin an der auftretenden Rosafärbung gut erkennen, wenn man mit 0,01%iger Farbstofflösung in der Vertiefung einer Porzellanplatte tüpfelt und mit 2 n-Natronlauge alkalisch macht. Besonders gut ist das p-Nitrobenzol-azo-resorcin $O_2N<\underline{\quad}>-N=N-<\underline{\quad}>OH$ (OH) auf seine Anwendung als Reagens für Magnesium untersucht worden. Literatur über die ersten Untersuchungen siehe Feigl, Qualitative Analyse, l. c., S. 245, Fußnote 2. Diese Verbindung bildet mit Magnesiumsalzen in alkalischer Lösung einen tiefblauen Farblack. K. Suitsu und K. Okuma (Journ. Amer. chem. Ind. Japan [Suppl.], **29**, S. 132, 1926) verwenden 1 Tropfen einer 0,5%igen Farbstofflösung in 1%iger Natronlauge. Nach W. L. Ruigh (Journ. Americ. chem. Soc., **51**, S. 1456, 1929) lassen sich noch 2 γ Magnesium nachweisen. Kobalt und Nickelsalze geben ebenfalls einen blauen Lack. Ammonsalze stören, was auch E. W. Engel (Journ. Amer. chem. Soc. **52**, S. 1812, 1930) angibt. Nach diesem Autor kann man noch 3 γ Magnesium gut nachweisen, wenn die zu untersuchende Lösung mit 6 n-Natronlauge und 1 Tropfen p-Nitrobenzol-azo-resorcinlösung in einem Porzellantiegel eingedampft wird. Beim Waschen mit Wasser bleibt eine Grünfärbung bestehen, die für Magnesium typisch ist. Kobalt hinterläßt überhaupt keine Färbung auf dem Porzellan, während sich Nickelsalze beim Waschen mit Wasser rotbraun färben. Acetate und Tartrate stören. J. Stone (Science, **72**, 322, 1930, durch Chem. Ztrbl., **1930**, II., 3060) stellt ein Reagenspapier zum Magnesiumnachweis her, indem er Filtrierpapier mit 0,01%iger alkoholischer Lösung von p-Nitrobenzol-azo-resorcin tränkt und getrocknet in braunen Flaschen aufbewahrt. Nach Tüpfeln mit der zu prüfenden schwach sauren Lösung zeigt sich nach dem Eintauchen in 1%ige Natronlauge ein blauer Fleck in rötlichem Feld, wenn mindestens 5 γ Magnesium anwesend sind. Es sei zu dieser Methode bemerkt, daß alkalische Lösungen des p-Nitrobenzol-azo-resorcins von magnesiumfreiem Filtrierpapier mit blauer Farbe aufgenommen werden, ebenso wie die des p-Nitrobenzol-azo-α-naphthols nach F. Feigl (Qualitative Analyse, l. c., S. 246), welcher auch betont, daß dieser Nachweis nur auf der Tüpfelplatte vorgenommen werden soll. F. Feigl

(Qualitative Analyse, l. c., S. 247) erreicht auf der Tüpfelplatte eine Erfassungsgrenze von 0,5 γ Magnesium bei Verwendung einer Lösung von 0,001 g p-Nitrobenzol-azo-resorcin in 100 ccm einer 2 n-Lauge. Er gibt auch eine einfache Methode an, die einen Mikronachweis des Magnesiums neben gewissen anderen Kationen gestattet. Jene Metalle, die zur Bildung stabiler Cyanatoionen befähigt sind, lassen sich nämlich durch Zusatz von viel Kaliumcyanid maskieren, so daß noch 1,3 γ Magnesium neben der 1000fachen Menge Nickel, Cadmium oder Kupfer, bezw. neben der 600fachen Menge Zink oder der 200fachen Menge Kobalt nachweisbar sind. Derselbe Autor hat im p-Nitrobenzol-azo-α-naphthol ein noch empfindlicheres Reagens auf Magnesium (Erfassungsgrenze 0,19 γ als Tüpfelreaktion) gefunden, das aber auch Calciumhydroxyd bei größerem Alkaliüberschuß blau anfärbt.

Nach A. Bauer (Ztrbl. inn. Med., **51**, 529, 1930, durch Chem. Ztrbl., **1930**, II., 1255) hat sich Krapp als mikrochemisches Reagens auf Magnesium bewährt. P. Agostini (Annali Chim. appl., **20**, 235, 1930, durch Chem. Ztrbl., **1930**, II., 1887) weist Magnesium in einer Verdünnung von 1 : 300.000 mittels Thiodiphenylcarbazid nach, von welchem er 2 Tropfen einer kalt gesättigten alkoholischen Lösung zu der auf Magnesium zu prüfenden Flüssigkeit gibt; beim Zusatz eines Überschusses von Ammoniak entsteht ein roter Niederschlag. Vorteile dürfte dieses Reagens gegenüber dem Diphenylcarbazid (F. Feigl, Mikrochemie, **2**, 186, 1924) wohl kaum bieten. Über die Reaktion des Thiodiphenylcarbazids mit anderen Ionen siehe W. Parri (Giorn. Farm. Chim., **73**, 207, durch Chem. Ztrbl., **1924**, II., 2683).

Die längst bekannte Reaktion von Magnesium mit Alkalihypojodit findet durch Feigl (Qualitative Analyse, l. c., S. 241; siehe dort auch die ältere Literatur), als Tüpfelreaktion auf der Porzellanplatte ausgeführt, ihre mikrochemische Verwertung. Sie gestattet einen Nachweis von 0,3 γ Magnesium.

Kristalloskopische Reaktionen auf Magnesium werden von P. Ray und P. B. Sarkar (Mikrochemie, Emich-Festschrift, S. 243, 1930) angegeben. Der empfindlichste Nachweis (Erfassungsgrenze: 0,0005 γ Mg) wird nach ihren Angaben erhalten, wenn man 1 Tropfen ungefähr 15%iger Urotropinlösung mit einem Mikrotröpfchen der zu prüfenden Lösung auf dem Objektträger

vermischt und einen Mikrotropfen verdünnter Kaliumferricyanidlösung hinzufügt. Der entstehende gelbe Niederschlag besteht aus dünnen, durchscheinenden Tafeln, welche bei gekreuzten Nicols schiefe Auslöschung zeigen. Während Barium, Strontium und Lithium oktaedrische Kristalle bilden, welche den Nachweis von Magnesium wenig behindern, stören große Mengen von Calciumsalzen durch Bildung dicker, prismatischer Nadeln. Die anderen angegebenen Mischungen mit Urotropin sind etwas weniger empfindlich, aber spezifischer. So stören z. B. auch Calciumsalze wenig, wenn statt des Kaliumferricyanides Kaliumthiosulfatocobalti-pentacyanid benützt wird. Erfassungsgrenze: 0,008 γ Mg.

Einen phytochemischen Nachweis von Magnesium mittels Caesiumchlorid und Natriumselenit gibt L. Rosenthaler (Mikrochemie, **8**, 151, 1930) an. Von den sonst in Pflanzen vorkommenden Kationen, Calcium, Mangan, Eisen, Aluminium, gibt keines eine damit verwechselbare Verbindung. Die Möglichkeit, gleichzeitig Calcium (als Calciumselenit) und Magnesium nachzuweisen, bietet einen Vorteil gegenüber dem üblichen Nachweis des Magnesiums als dessen Ammoniumphosphat. Diese Verbindung benützt auch G. Klein (Österr. botan. Ztschr., **76**, 15, 1926, durch Chem. Ztrbl., **1927**, II., 2329), um Magnesiumsalze, nach einer von ihm angegebenen Extraktion aus Pflanzenschnitten, nachzuweisen. H. Eilers (Chem. Weekbl., **24**, 448, 1927, durch Chem. Ztrbl., **1927**, II., 2088) berichtet über die Anwendung von Titangelb zum Nachweis des Magnesiums in der Pflanzenmikrochemie. Er findet, daß Cellulose, Öle, Fette und Harze stören und deshalb vorher entfernt werden müssen.

C a l c i u m. Einige Tüpfelreaktionen ohne Empfindlichkeitsangaben beschreibt G. Gutzeit (Helv. chim. Acta, **12**, 728 und 842, 1929), unter anderen auch eine mittels Thiodiphenylcarbazid (siehe unter „Magnesium"). Nach S. Amberg, J. Landsbury und F. Sawyer (Journ. Amer. Chem. Soc., **50**, 2630, 1928) eignen sich Mischungen von Gelatine und Oleat zum Nachweis von noch 0,5 γ Calcium in alkalischer Lösung. Magnesium, Barium, Strontium geben die Reaktion auch. Ein sehr empfindliches, aber unspezifisches Reagens hat F. Feigl (Qualitative Analyse, l. c., S. 240) im Osazon der Dioxyweinsäure angegeben. Als Tüpfelreaktion, auf schwarzem Glas oder Porzellan ausgeführt, erreicht

Feigl eine Erfassungsgrenze von 0,01 γ Calcium (Grenzkonzentration 1 : 5,000.000), wenn er den Probetropfen mit 1 Tropfen destillierten Wassers und einem Körnchen Reagens verrührt; der Tropfen überzieht sich mit einer feinen gelblichen Haut, die nach kurzem Stehen einen Niederschlag bildet. Das Reagens bewährt sich sehr gut zur Überprüfung von destilliertem Wasser.

A. Martini (Mikrochemie, **6**. 152, 1928) empfiehlt Kupfern als Kontrollreagens auf Calcium und Strontium. Die Kristalle sind gut zu unterscheiden. P. Rây und P. B. Sarkar (l. c.) weisen noch 0,008 γ Calcium mit Urotropin und Kaliumferricyanid (siehe unter „Magnesium") nach. W. Jacobi und W. Keuscher (Ber. ges. Physiol., **40**, 646, 1927) bringen 1 Tropfen 2%ige Schwefelsäure auf den histologischen Schnitt, lassen einziehen und dann langsam verdampfen. Calcium ist unter dem Mikroskop an der Entstehung seines Sulfats zu erkennen.

Strontium läßt sich nach Feigl (Mikrochemie, **2**, 186, 1924) mikrochemisch nachweisen, indem man 1 Tropfen der zu untersuchenden Lösung auf Filtrierpapier bringt, das Barium durch Zugabe eines Tropfens Kaliumchromatlösung als Chromat fixiert und dann eine wäßrige Lösung von Natriumrhodizonat zufügt. Gegebenenfalls erscheint ein brauner Fleck oder Kreis von Strontiumrhodizonat. Erfassungsgrenze: 3,9 γ Strontium bei Anwesenheit der 84fachen Menge Barium. Ein Nachteil dieser Reaktion ist die schwierige Herstellung (G. Gutzeit, Helv. chim. Acta, **12**, 725, 1929) und die geringe Haltbarkeit der Natriumrhodizonatlösung, welche nur frisch bereitet verwendet werden soll. Über die Anwendung von Kupferon als Kristallreagens für Strontium siehe unter „Calcium".

Barium kann neben Strontium mittels Natriumrhodizonat nachgewiesen werden. Nach Feigl (Mikrochemie, **2**, 186, 1924) verhalten sich die auf dem Filtrierpapier entstehenden Niederschläge gegen Salzsäure (1 : 100) verschieden. Während der Strontiumniederschlag sofort gelöst wird, bleibt scharlachrotes Bariumrhodizonat bestehen. Es lassen sich noch 0,53 γ Barium neben der 53fachen Menge Strontium nachweisen (siehe auch unter „Strontium"). Nach G. Gutzeit (Helv. chim. Acta, **12**, 727 und 842, 1929) gibt Barium mit Tetraoxychinon in warm gesättigter wäßriger Lösung eine tiefrote Färbung, die bei Zugabe

von verdünnter Salzsäure bestehen bleibt, während die durch Strontium hervorgerufene Braunfärbung verschwindet. Empfindlichkeitsangaben fehlen.

Nach A. Martini (Mikrochemie, **6**, 152, 1928) ist Kupferon ein sehr empfindliches Reagens auf Barium. Die großen farblosen Kristalle zeigen unter dem Polarisationsmikroskop deutliche Zweifarbigkeit, starke Lichtbrechung und schräge Auslöschung. Einen sehr schönen Nachweis von Barium mittels Natriumwolframat hat G. Denigés (Bull. Soc. Pharm., **67**, 4, 1929) gefunden. Auf einen Objektträger wird zu einem Tropfen der 1%igen Reagenzlösung 1 Tröpfchen der zu untersuchenden Flüssigkeit gebracht; bei Anwesenheit von Barium bilden sich mehr oder weniger langgezogene quadratische Oktaeder, die häufig an den Enden abgestumpft sind. Sie vereinigen sich oft und erinnern dann an eine Garbe, deren Mitte, ebenso wie die der einzelnen Oktaeder, oft stark lichtbrechend ist. Manchmal gruppieren sich die einzelnen Kristalle auch zu gewundenen Formen. Die Erfassungsgrenze ist 5 γ Ba. Die Sphärokristalle des Strontium- und Calciumsalzes können mit den Oktaedern des Bariumwolframates nicht verwechselt werden. Letztere haften übrigens so fest auf dem Objektträger, daß durch leichtes Abspülen mit einem dünnen Wasserstrahl die anderen Wolframate weggewaschen werden können. Das Auftreten eines dem Waschen widerstehenden Beschlages macht die Anwesenheit von Barium bereits wahrscheinlich. Um Bariumsulfat nachzuweisen, reduziert Denigés eine Spur durch kurzes Erhitzen am Platindraht, ungefähr 1 cm über dem inneren Kegel der Bunsenflamme, läßt das Reagens 1 bis 2 Minuten auf den Glührückstand einwirken und prüft unter dem Mikroskop, eventuell nach Waschen des Objektträgers, ob Bariumwolframat anwesend ist.

B. Quantitativer Teil.

Quantitative Bestimmung des Magnesiums.

Von **Zdenko Stary**, Prag.

I. Als gravimetrische Bestimmungsformen kommen in Betracht:

1. Magnesiumoxyd, 1 mg MgO entspricht 0,6032 mg Mg.
2. Magnesiumsulfat, 1 mg $MgSO_4$ entspricht 0,2020 mg Mg.

3. Magnesiumpyrophosphat, 1 mg $Mg_2P_2O_7$ entspricht 0,2184 mg Mg.

4. Magnesium-Ammoniumphosphat (wasserhaltig), 1mg $Mg(NH_4)PO_4$, $6\,H_2O$ entspricht 0,0991 mg Mg.

5. Magnesiumpyroarsenat, 1 mg $Mg_2As_2O_7$ entspricht 0,1566 mg Mg.

6. Magnesium-Ammoniumarsenat (wasserhaltig), 1 mg Mg $(NH_4)AsO_4$, $6\,H_2O$ entspricht 0,0840 mg Mg.

7. Magnesiumoxychinolat (getrocknet bei 130°), 1 mg $Mg(C_9H_6ON)_2$ entspricht 0,0778 mg Mg.

8. Magnesiumoxychinolat (getrocknet bei 100°), 1 mg $Mg(C_9H_6ON)_2$, $2\,H_2O$ entspricht 0,0698 mg Mg.

II. Als maßanalytische Bestimmungsformen können verwendet werden:

1. Magnesiumoxyd, Magnesiumhydroxyd, Magnesiumcarbonat. Acidimetrisch. 1 cc n 10 Säure entspricht 1,216 mg Mg.

2. Magnesium-Ammoniumphosphat.
   a) Als Fällungsmethode oder acidimetrisch als $Mg(NH_4)PO_4$. 1 cc n 10 Titerflüssigkeit entspricht 1,216 mg Mg.
   b) Nach Überführung in Phosphormolybdänsäure. Acidimetrisch. 1 cc n 10 Lauge entspricht 0,0935 mg Mg[1]).

3. Magnesium-Ammoniumarsenat. Jodometrisch. 1 cc n 10 Thiosulfat entspricht 1,216 mg Mg.

4. Magnesiumoxychinolat.
   a) Bromometrisch. 1 cc n/10 Bromidbromatlösung entspricht 0,304 mg Mg.
   b) Acidimetrisch. 1 cc n/10 Säure entspricht 1,216 mg Mg.

III. Zahlreiche colorimetrische Bestimmungsverfahren sind auf der Fällung des Magnesiums als Phosphat aufgebaut, andere beruhen auf der Fällung als Oxychinolat, weitere auf Farbreaktionen des Magnesiums mit Tropäolin 00, Titangelb, Natriumoleat, ferner mit 1, 2, 5, 8 Tetraoxyanthrachinon und Hypojoditen.

IV. Nephelometrische Bestimmungsmethoden des Magnesiums beruhen auf der Fällbarkeit des Magnesiums als Ferro-

[1]) Empirisch ermittelter Faktor, gilt nur für eine bestimmte vorgeschriebene Fällungsmethode.

cyanid, Sulforicinat und auf der Umsetzung des Phosphats in Strychninphosphormolybdänsäure.

Alle genannten colorimetrischen und nephelometrischen und die meisten der titrimetrischen und gravimetrischen Bestimmungsmethoden sind für die Bestimmung kleiner Mengen Magnesium ausgebaut worden. Die analytischen Grenzen der gravimetrischen und titrimetrischen Methoden ergeben sich aus den oben angeführten Umrechnungsfaktoren. Für die colorimetrischen und nephelometrischen Methoden läßt sich ein gleicher objektiver Maßstab nicht ohne weiteres geben, vielleicht wird ein objektiver Vergleich der Empfindlichkeit der einzelnen colorimetrischen Methoden durch Bestimmung des Extinktionskoeffizienten der aus einem Milligramm des gesuchten Stoffes hergestellten Farblösungen mit Hilfe der Stufenphotometrie zu geben sein.

Für die mikroanalytische Bestimmung erscheint es wichtig, daß die maßanalytische Bestimmung ceteris paribus um so ungenauer wird, je mehr das Äquivalentgewicht des maßanalytisch bestimmten Stoffes ansteigt. Kann bei der Mikrotitration beispielsweise noch 0,01 cc einer n/100 Lösung erfaßt werden, so entspricht diese Genauigkeit bei der Reihe der Erdalkalien Mg—Ca—Sr—Ba einer Fehlergrenze von 1,2—2,0—4,4—6,9 Mikrogramm; analog steigt die Fehlergrenze auch bei den meisten colorimetrischen Methoden mit dem Äquivalentgewicht an. Man wird daher bei Bestimmung von Substanzen mit geringem Äquivalentgewicht maßanalytische und colorimetrische, bei Mikrobestimmung von Substanzen mit großem Äquivalentgewicht gravimetrische Methoden ceteris paribus eher empfehlen können.

I. Bestimmung als MgO, $Mg(OH)_2$ und $MgSO_4$.

Enthält das untersuchte Material außer Magnesium nur flüchtige Bestandteile und durch Schwefelsäure verdrängbare Anionen, so kann das Magnesium durch Abrauchen mit Schwefelsäure in Sulfat übergeführt und als solches gewogen werden. In analoger Weise kann das Magnesiumsalz auch in das Oxalat und dieses durch Glühen in Oxyd übergeführt werden. Die Bestimmung des Oxyds kann sodann durch Wägung oder durch acidimetrische Titration erfolgen. Doch kann die Bestimmung als Oxyd oder Sulfat

wegen der Hygroskopie dieser Verbindungen und der Zersetzlichkeit des Sulfats bei hoher Temperatur leicht zu Fehlern führen. (Vgl. hierüber CANALS, Bull. Soc. chim. France, **25**, 90, 1919.)

Die Trennung kleiner Mengen Magnesium von den Alkalimetallen als Oxyd wird nach MALJAROFF am besten in der Weise vorgenommen, daß die Nitrate oder Chloride mit etwa dem zehnfachen Überschuß fester Oxalsäure vermischt und hierauf langsam auf einem Platinblech erhitzt werden. Nach Abdampfen der flüchtigen Säuren bleibt das Magnesium als Oxalat zurück, das durch Glühen in unlösliches Oxyd übergeführt und durch Extraktion der Alkalicarbonate mit Wasser isoliert wird. (MALJAROFF, Mikrochemie, **6**, 92, 1928.) Ein ähnliches Verfahren ist auch von MOLDENHAUER (Ztschr. angew. Chem., **39**, 557, 1926) angegeben worden. Methodische Einzelheiten über die Bestimmung von Magnesium als Oxyd sind in den letzten Jahren von OTTO (Journ. Amer. chem. Soc., **48**, 3016, 1926), ferner von GALIMBERTI und ZOCCHEDDU (Annali di Chimica Appl., **18**, 286, 1928) mitgeteilt worden.

Die titrimetrische Bestimmung des Magnesiums als Oxyd oder Hydroxyd beruht im wesentlichen auch heute noch auf dem alten PRECHT'schen Verfahren der Fällung des Magnesiumhydroxyds durch eine bekannte Menge gestellter Lauge und Rücktitration des Säureüberschusses. (PRECHT, Ztschr. analyt. Chem., **18**, 438, 1879.) Das Verfahren ist erst neuerdings wieder von VÜRTHEIM (Chem. Weekbl., **19**, 461, 1922) nachgeprüft und empfohlen worden. Da das Calciumhydroxyd zum Unterschied vom Magnesiumhydroxyd in zirka 70%igem Alkohol löslich ist, kann nach WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT-LEITZ (Ber. d. D. chem. Ges., **56**, 488, 1923) durch Titration in alkoholischer Lösung das Magnesium auch in Anwesenheit von Calciumsalzen einzeln bestimmt werden. Nach MALJAROW (Journ. Russ. phys.-chem. Ges., **62**, 1529, 1930) eignet sich die Fällung des Magnesiums als Hydroxyd mit nachfolgender acidimetrischer Titration sehr gut für die Bestimmung kleiner Mengen Magnesium und hat außerdem den Vorteil, daß hierbei Calciumsalze vorhanden sein dürfen, die man in der gleichen Lösung auf manganometrischem Wege bestimmen kann. Ammonsalze dürfen in der Lösung nicht vorhanden sein, die Magnesiummenge darf

„nicht viel mehr als 10 mg MgO", also zirka 6 mg Mg betragen. (Ref. Chem. Zbl., 1931, I., 320.)

Nach Dienes (Biochem. Ztschr., **95**, 131, 1919) ist die Fällung als $Mg(OH)_2$ durch Lauge und nachfolgende Titration des Niederschlages für ein Mikroverfahren nicht geeignet, dagegen schlägt Dienes für die Bestimmung kleiner Mengen Magnesium (Bruchteile von Milligrammen) eine Modifikation der alten Seifentitration vor. Der Umschlag ist nach den Angaben des Autors scharf, die zur Schaumbildung in der gleichen Menge destillierten Wassers nötige Menge der Seifenlösung muß von dem erhaltenen Wert in Abzug gebracht werden.

Zur Trennung des Magnesiums von den Alkalimetallen ist auf Grund älterer Versuche (Herz und Drucker, Ztschr. anorgan. Chem., **26**, 347) neuerdings wieder das Guanidin (ferner auch Piperidin und Dimethylamin) empfohlen worden. (Vgl. Hemming, Ztschr. anorgan. Chem., **130**, 333, 1923.) Das Magnesium wird durch die genannten Basen ebenfalls als Hydroxyd ausgefällt und als Oxyd bestimmt. In die Mikroanalyse hat die Methode bisher keinen Eingang gefunden.

Auf elektrotitrimetrischem Wege bestimmte Freak das Magnesium durch Titration mit NaOH. Die untere Grenze der Bestimmbarkeit liegt bei einer Konzentration von 20 mg%. (Journ. chem. Soc. London, **115**, 55, 1919.)

Über die Verwendung der titrimetrischen Bestimmung des Magnesiums als $Mg(OH)_2$ zur Bestimmung des Magnesiumgehaltes von Gesteinen vgl. Pierce und Setzer (Industr. a. Engin. Chem., **20**, 436, 1928), Røer (Tidskr. f. Kemi og Bergvaesen, **9**, 27, 1929), Melzer (Tonindustr. Ztg., **52**, 1464, 1928), Rissel (Tonindustr. Ztg., **53**, 105, 1928).

II. Fällung als Magnesium-Ammoniumphosphat.

Die in der Makroanalyse meist nach der Methode von Schmitz (Ztschr. analyt. Chem., **45**, 512, 1906) durchgeführte Fällung des Magnesiums als Phosphat wurde in neuerer Zeit von Schmitz selbst (Ztschr. analyt. Chem., **65**, 46, 1925) in Einzelheiten (Zusatz von Ammonacetat als Puffer u. a.) modifiziert. Weiters sind genaue Vorschriften für die Fällung des Magnesium-Ammonium-

phosphats in den letzten Jahren von Travers und Perron (Ann. Chim., **2**, 43, 1924) und von Hahn, Vieweg und Meyer (s. u.) angegeben worden.

Für die Fällung eines reinen großkristallinischen Magnesium-Ammoniumphosphats ist es besonders wichtig, die Bildung des Niederschlages möglichst langsam vor sich gehen zu lassen. Dies kann nach Hahn, Vieweg und Meyer (Ber. d. D. Chem. Ges., **60**, 971, 1927) durch Fällung in „extremer Verdünnung" oder durch Zusatz kleiner Mengen komplexbildender Säuren (Weinsäure, Zitronensäure) erfolgen. Im Gegensatz dazu ist neuerdings vorgeschlagen worden, die Okklusion von Fremdsalzen durch Fällung in möglichst feiner, hochdisperser Niederschlagsform zu verhindern. Dies geschieht durch Fällung aus „extremer Konzentration", das heißt durch Eindampfen der Magnesiumlösung, Zusatz gesättigter Phosphatlösung und alkoholischen Ammoniaks. (Njegovan und Marjanković, Ztschr. analyt. Chem. 82, 154, 1930.)

Für die Einhaltung der optimalen Wasserstoffionenkonzentration ist der Zusatz von Ammonacetatpuffer bei der Fällung des Magnesiums als Phosphat von McNabb (Journ. Amer. chem. Soc., **50**, 300, 1928) in ausführlicher Weise untersucht worden.

Von den Schwermetallen stören Aluminium und Zink nicht, sie können durch Zusatz weinsaurer Salze bei der Phosphatfällung in Lösung gehalten werden. (Vgl. Wilke-Dörfurt, Wissensch. Veröffentl. d. Siemenskonz., **3**, 9, 1924.) Ebenso empfehlen Zusatz von Weinsäure zur Trennung von Aluminium und Zink Jander, Wendehorst und Weber (Ztschr. anorgan. Chem., **142**, 329, 1925). Doch ist auch die Fällung des Magnesiums selbst durch die Anwesenheit größerer Mengen Weinsäure gehemmt (vgl. Hahn, Ber. d. D. Chem. Ges., **57**, 1857, 1924: Ztschr. anorgan. Chem., **144**, 142, 1925). Besser ist es nach Hahn, das Mitfallen von Aluminium und Zink bei der Phosphatfällung durch einen größeren Überschuß von Lauge zu verhindern. (Über die Trennung von Al und Zn vgl. auch Jander und Weber, Ztschr. angew. Chem., **36**, 586, 1924, dagegen Hahn, Ztschr. angew. Chem., **35**, 298, 1922.) Auch Zitronensäure hemmt das Ausfallen des Phosphatniederschlages (vgl. u. a. Tereschtschenko und Nekritsch, Journ. Chimique de l'Ukraine, **2**, 163, 1926).

Auch die Menge der in der Lösung vorhandenen Ammonsalze

und des Ammoniaks ist auf die quantitative Fällung des Magnesiums nicht ohne Einfluß. Nach MAJDEL (Archiv hemiju farmaciju, Zagreb, **1**, 216, 1928) stellt eine Ammoniaklösung von zirka 2% das Optimum dar. Ein großer Überschuß von Ammonsalzen stört namentlich dann, wenn es sich um die Bestimmung sehr geringer Mengen Magnesium handelt. (KALLAUNER, SIMANE und HELAN, Transact. of the Ceramic Soc., **26**, 86, 1927.) Der Überschuß von Ammonsalzen kann durch Abdampfen zum Teil entfernt werden. Alkalisalze stören die Fällung des Magnesium-Ammoniumphosphats dagegen nicht; sind sie jedoch in besonders großem Überschuß vorhanden, ist es notwendig, das Ausfallen des Magnesium-Ammoniumphosphats möglichst langsam vor sich gehen zu lassen. (Vgl. HAHN a. a. O.)

Für die Bestimmung kleiner Magnesiummengen ist die Phosphatfällung namentlich von BENEDETTI-PICHLER (Ztschr. analyt. Chem., **64**, 361, 1924) ausgebaut worden. Am besten fällt man aus der salzsauren Lösung (angesäuertes Filtrat der Calciumoxalatfällung) durch Zusatz von 1 ccm 5%iger Natriumphosphatlösung und 10%igem Ammoniak (zunächst tropfenweise bis zur alkalischen Reaktion gegen Methylrot, dann weitere 2 bis 3 ccm). Nach längerem Stehen wird durch ein Quarzfilterstäbchen filtriert und fünfmal mit zirka 0,5 ccm 3%igem Ammoniak gewaschen.

Um ein nachträgliches Lösen des Niederschlages in Waschwasser zu verhindern, schlägt HIBBARD (Journ. Ind. and Engin, Chem., **11**, 753, 1919) vor, den Niederschlag zuerst mit neutralem 95%igem Alkohol und hierauf mit gesättigter Magnesium-Ammoniumphosphatlösung zu waschen. Ein ähnliches Vorgehen empfiehlt auch STEEL (Analyst, **44**, 29, 1919). Mit ammoniakalischem Alkohol waschen KRAMER und TISSDALL (Journ. of biol. Chem., **47**, 475, 1921), BRIGGS (Journ. of biol. Chem., **52**, 349, 1922), DENIS (Journ. of biol. Chem., 52, 411, 1922) und die meisten der neueren Untersucher.

Bei der Übertragung der Methode auf die Mikroanalyse hat es sich sehr bewährt, die Filtration mittels der EMICH'schen Filterstäbchen vorzunehmen. (Vgl. HÄUSLER, Ztschr. analyt. Chem., **64**, 361, 1924, und zwar S. 372, ferner BENEDETTI-PICHLER, Ztschr. analyt. Chem., **64**, 409, 1924, und zwar S. 422, weitere Beleganalysen bei SCHWARZ-BERGKAMPF, Ztschr. analyt. Chem.,

69, 330, 1926, und bei Heller und Meyer, Ztschr. analyt. Chem., **71**, 117, 1927.) — Es ist nicht nötig, das gefällte Magnesium-Ammoniumphosphat bis zur Filtration längere Zeit stehenzulassen. (Vgl. Häusler, Benedetti-Pichler, l. c., ferner Kleinmann, Biochem. Ztschr., **99**, 19, 1919.)

Bei der Bestimmung in Gemischen biologischer Herkunft wird man je nach dem, ob es sich um Flüssigkeiten oder festes Material handelt, verschieden vorgehen müssen. Von der Veraschung des Blutserums oder anderer biologischer Flüssigkeiten (Liquor cerebrospinalis, Exsudate, Magensaft u. dergl.), wie es die älteren Methoden (Dienes, Biochem. Ztschr., 95, 131, 1919, Marriot und Howland, Journ. of biolog. Chem., **32**, 233, 1917, aber auch Condorelli, Arch. Pharmaz., **40**, 71, 1925, und Rendiconti Accad. Scienze Fis. e Mat. [3], **31**, 73, 1925) empfehlen, oder von der Enteiweißung mit Trichloressigsäure (Denis, Journ. biolog. Chem., **41**, 363, 1920, Briggs, Journ. biolog. Chem., **52**, 349, 1922) sind die meisten der Untersucher (Kramer und Tissdall, Journ. biolog. Chem., **47**, 475, 1921, Denis, Journ. biolog. Chem., **52**, 411, 1922, Stary, Kral und Winternitz, Ztschr. f. d. ges. exp. Med., **66**, 671, 1929, Gadient, Helv. chim. Acta, **6**, 729, 1923, Tschopp, Helv. chim. Acta, **10**, 843, 1927) bereits abgekommen. Auch im Harn geht der Magnesiumbestimmung in der Regel nur die Fällung des Calciums voraus. (Vgl. Pincussen, Mikromethodik, 549, 1930.) Organe wird man in der Regel veraschen. Z. B. nach Pincussen und Cronheim (Biochem. Ztschr., **171**, 7, 1926) mit HNO_3 und H_2O_2. — Einzelheiten über die Vorbehandlung von Knochen für die Magnesiumbestimmung siehe bei Kramer und Howland (Journ. biolog. Chem., **68**, 711, 1926).

Nach Kramer und Tissdall (l. c.), deren Verfahren zur Mikrobestimmung des Magnesiums im Blutserum von den meisten der neueren Methoden übernommen worden ist und das sich auch bei der Untersuchung anderer biologischer Flüssigkeiten gut bewährt hat[2]), werden 2 ccm der untersuchten Flüssigkeit — ohne weitere Vorbehandlung — durch Oxalatfällung in essigsaurer, Natriumacetat enthaltender Lösung von Calciumsalzen befreit. Vom Cal-

[2]) Am besten in Kombination mit der colorimetrischen Methode nach Bell-Doisy und Briggs. Vgl. S. 469, 470.

ciumniederschlag wird abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abpipettiert. 5 ccm der auf diese Weise erhaltenen Lösung werden in ein kleines Becherglas übergeführt, mit Ammonphosphat und Ammoniak im Überschuß versetzt und über Nacht stehengelassen. Nach BRIGGS (Journ. biolog. Chem., **52**, 349, 1922), KRAMER und HOWLAND (Journ. biolog. Chem., **68**, 715, 1926) und anderen ist es auch bei der Mikrobestimmung empfehlenswert, das Ausfallen des Niederschlages durch leichtes Reiben der Gefäßwände zu beschleunigen.

Die Bestimmung des Magnesium-Ammoniumphosphats kann gravimetrisch, titrimetrisch oder nach colorimetrischen, nephelometrischen oder sedimetrischen Methoden erfolgen.

1. Die gravimetrische Bestimmung des Magnesium-Ammoniumphosphats

kann in den folgenden Wägungsformen erfolgen:

a) als $Mg(NH_4)PO_4$, $6\,H_2O$.

Das Verfahren ist von WINKLER (Ztschr. f. angew. Chem., **31**, 211, 1918) ausgearbeitet worden. Die Fällung erfolgt aus der ammonchloridhaltigen Lösung durch Zufließenlassen von 10%igem Dinatriumphosphat bei einer Temperatur von 80 bis 90°. Bei längerem Stehen in der Kälte wird der anfangs amorphe Niederschlag allmählich kristallinisch. Er wird mit 1%igem Ammoniak gewaschen und abgesaugt. Das Trocknen erfolgt durch Behandeln mit Methylalkohol und durch 24stündiges Stehen in einem mit krist. $CaCl_2$, $2\,H_2O$ beschickten Exsikkator bei gewöhnlicher Temperatur.

b) als $Mg_2P_2O_7$.

Das gefällte, abfiltrierte und gereinigte Magnesium-Ammoniumphosphat wird durch Erhitzen in Pyrophosphat überführt und gewogen. Das Erhitzen nehmen CERNATESCO und VASCAUTAN (Ann. scient. Univ. Jassy, **14**, 305, 1926) im Sauerstoffstrom vor (Verbrennung des Filters). BENEDETTI-PICHLER (a. a. O.) erhitzt im elektrischen Ofen auf zirka 1000°, SCHWARZ-BERGKAMPF (Ztschr. f. analyt. Chem., **69**, 330, 1926) erhitzt über dem Teklu-Brenner durch 3 bis 5 Minuten. Nach HOFFMANN und LUNDELL (Bureau Standards Journ. Research, **5**, 279, 1930) liegt das Tem-

peraturoptimum für die quantitative Umwandlung in Pyrophosphat bei 1100°. Dagegen ist es nach MIHOLIĆ (Journ. Chem. Soc., 200, 1930) nicht notwendig, auf hohe Temperatur zu erhitzen. 450° genügen hierzu vollständig.

c) Wägung des als Magnesiumsalz gefällten Phosphats als Ammoniumphosphormolybdat.

Die LORENZ'sche Methode der Phosphorsäurebestimmung als Phosphormolybdat, die durch PREGL und LIEB (Quantitative organische Mikroanalyse) für die Mikrobestimmung des Phosphors Bedeutung erlangt hat, kann auch für die Mikrobestimmung des Magnesium-Ammoniumphosphats dienen. Sie hat den Vorteil einer hochmolekularen Bestimmungsform, der allerdings bei der Magnesiumbestimmung durch die Umwandlung und neuerliche Filtration des bereits als Magnesiumsalz isolierten und gewaschenen Phosphats erkauft werden muß. Die Methode ist ebenso wie die folgende von HIRTH (Compt. rend. seanc. biol., 88, 460, 1923) angegeben worden.

Das Magnesium wird im Filtrat der Calciumoxalatfällung mit Ammonphosphat und Ammoniak gefällt, abfiltriert, mit Ammoniak gewaschen, in sulfathaltiger HNO_3 gelöst, mit dem Sulfatmolybdänreagens nach PREGL-LIEB gefällt, im Filterröhrchen gesammelt und mit Ammonnitrat gewaschen.

d) Wägung des als Magnesiumsalz gefällten Phosphats als phosphormolybdänsaures Barium.

Der nach c) hergestellte Niederschlag kann weiters in Ammoniak gelöst und mit Bariumchlorid gefällt werden. Nach zwei Stunden wird das ausgefallene phosphormolybdänsaure Barium filtriert, geglüht und gewogen (HIRTH, l. c.).

2. Titrimetrische Bestimmung des Magnesiums als Magnesium-Ammonium-Phosphat.

Die Bestimmung kann entweder als Fällungsmethode durch Titration mit gestellter Phosphatlösung oder aber acidimetrisch durch Titration des bereits gefällten, isolierten und gereinigten Magnesium-Ammonium-Phosphats erfolgen. Schließlich kann das erhaltene Magnesium-Ammonium-Phosphat auch in Phosphor-

molybdänsäure umgewandelt und als solche acidimetrisch titriert werden.

a) Für die direkte titrimetrische Bestimmung des Magnesiums mittels gestellter Phosphatlösungen kann die von HAHN, WOLF und JÄGER (Ber. d. D. Chem. Ges., 57, 1394, 1924) angegebene empfindliche Farbreaktion auf Magnesium mit 1, 2, 5, 8 Tetraoxyanthrachinon dienen. Man geht nach HAHN und MEYER (Ber. d. D. Chem. Ges., 60, 975, 1926) zur Bestimmung des Magnesiums am besten in der Weise vor, daß man eine gemessene Menge Phosphat in Gegenwart von Ammonchlorid und Ammoniak im Überschuß vorlegt und die Magnesiumlösung so langsam zufließen läßt, daß die mit dem Indikator versetzte Lösung dauernd rosa bleibt. Der Überschuß des Phosphats wird mit gestellter Magnesiumlösung bis zum Umschlag in Blau zu Ende titriert.

b) Die acidimetrische Methode zur Bestimmung des gefällten Magnesium-Ammonium-Phosphats durch Lösen in überschüssiger Säure und Rücktitration des Säureüberschusses (HANDYS, Journ. Amer. Chem. Soc., 22, 31, 1900 u. a.) ist für die Bestimmung kleiner Mengen Magnesium von HIBBARD (Journ. Industr. a. Engin. Chem., 11, 753, 1919) ausgebaut worden. Der in gewohnter Weise ausgefällte, zunächst mit Ammoniak, dann mit 95%igem Alkohol bis zur neutralen Reaktion gewaschene Niederschlag wird in einem gemessenen Säureüberschuß gelöst und mit Methylrot als Indikator zurücktitriert. Für die Untersuchung von Lebensmittelaschen ist die acidimetrische Bestimmung des Magnesium-Ammonium-Phosphats von PFYL und SAMTER (Ztschr. f. Unters. Nahrungs- u. Genußmittel, 43, 313, 1922) in Einzelheiten modifiziert worden. 1 cc n/50 Säure entspricht 0,24 mg Magnesium.

c) Die acidimetrische Titration als Ammonium-Phosphormolybdat. Der in einer Phosphatlösung durch Zusatz von Ammonmolybdat, Salpetersäure und Ammoniumnitrat erzeugte Niederschlag hat bei der von NEUMANN (Ztschr. f. physiol. Chem., **37**, 129, 1902, ferner ibidem, **43**, 35, 1904) und von SAMSON (Biochem. Ztschr., **164**, 290, 1925, Mikromethode) verwendeten Fällungsmethode die Zusammensetzung $(NH_4)_3PO_4$, $12\,MoO_3$, $2\,HNO_3$ und verbraucht auf ein Äquivalent Phosphat 26 Äquivalente NaOH. Die Methode ist von zahlreichen Autoren

(Literatur vgl. bei STREBINGER, Mikrochemie, **7**, 122, 1929) für die Mikrobestimmung der Phosphorsäure verwendet worden; für die Magnesiumbestimmung verwendete sie als erster DIENES (Biochem. Ztschr., **95**, 131, 1919).

DIENES löst das in gewohnter Weise gefällte Magnesium-Ammonium-Phosphat in Salpetersäure und versetzt in der Hitze mit dem Molybdatreagens. Nach mehrstündigem Stehen in einer feuchten Kammer wird abzentrifugiert und zuerst mit Ammonnitratlösung und hierauf mit Kaliumnitratlösung gewaschen. Man löst sodann in überschüssiger Natronlauge, fügt Phenolphthalein hinzu und titriert mit n/20 HCl. (Journ. of biolog. Chem., **61**, 77, 1924.)

STEWART und ARCHIBALD (Biochem. Journ., **19**, 484, 1925) kombinieren die Fällungsmethode nach KRAMER und TISSDALL mit der acidimetrischen Titration des Ammonium-Phosphormolybdats; bei der Isolierung des letzteren wird durch Papierbrei filtriert und zunächst mit Säure, dann erst mit Kaliumnitrat bis zur neutralen Reaktion gewaschen.

Der Papierbrei wird dann in kohlensäurefreier NaOH suspendiert und unter Kohlensäureabschluß titriert. Auf einem ähnlichen Prinzip beruht auch die im letzten Jahre mitgeteilte Methode von KALLINIKOWA (Biochem. Ztschr., **220**, 278, 1930).

d) In der Makroanalyse bewährte weitere Methoden, wie die Titration des Magnesium-Ammonium-Phosphats mit Uranlösung (in Gegenwart von Natriumacetat), mit Cochenille als Indikator (vgl. auch CANALS, Bull. de la Soc. Chim. de France, **25**, 655, 1920), haben für die Mikroanalyse bisher keine nennenswerte Bedeutung erlangt.

3. Kolorimetrische Bestimmungsmethoden des Magnesium-Ammonium-Phosphats.

Die kolorimetrischen Bestimmungsmethoden des Magnesium-Ammonium-Phosphats sind von ungemein zahlreichen Autoren modifiziert worden. Sie beruhen ausnahmslos auf der Kolorimetrie des im Magnesiumniederschlag enthaltenen Phosphatrestes, so daß jeder Fortschritt in der Mikrobestimmung der Phosphorsäure von analogen Verbesserungen der Magnesiumbestimmung gefolgt war.

(Über neuere Mikromethoden der Phosphorbestimmung vgl. STREBINGER, Mikrochemie, **7**, 116, 1929.)

Das Abfiltrieren des Magnesium-Ammonium-Phosphats erfolgt für die kolorimetrischen Mikromethoden in der Regel in mit Asbest gefüllten gewöhnlichen Goochtiegeln, die immer wieder verwendet werden können, da der Niederschlag ja im Verlaufe der Bestimmung jedesmal wieder quantitativ aus dem Tiegel herausgewaschen wird. Doch muß man sich davon überzeugen, daß der Asbest selbst nicht kleine Mengen Phosphorsäure an die durchfließende Lösung abgibt. (Vgl. hierüber HAMMETT und ADAMS, Journ. of biolog. Chem., **54**, 565, 1922.) Aus diesem Grunde ziehen es einzelne Autoren vor, den Phosphatniederschlag abzuzentrifugieren.

Für die kolorimetrische Bestimmung selbst sind verschiedene Wege gangbar:

a) Die Methode von MARRIOTT und HOWLAND (Journ. of biolog. Chem., 32, 233, 1917) beruht auf der Beobachtung, daß die Farbenintensität von Rhodaneisenlösungen in Anwesenheit von Phosphaten, und zwar proportional der Konzentration der letzteren zurückgeht. Die Methode ist später mit kleinen Abänderungen von KRAMER und TISSDALL (Bull. of the John Hopkins hosp., **32**, 44, 1921) übernommen worden. Die Methode ist also eine Art negativer Kolorimetrie; die Ablesung geschieht in der Weise, daß eine Reihe von Phosphatlösungen steigender Konzentration hergestellt und mit Rhodaneisenlösung versetzt wird. Diejenige Vergleichslösung, deren Farbton der Versuchslösung am meisten ähnelt, wird aufgesucht, eventuell zwischen den beiden ähnlichsten interpoliert.

b) Wesentlich einfacher und zugleich genauer wurde die Kolorimetrie des Magnesium-Ammonium-Phosphats durch die Beobachtung von BELL und DOISY, daß einzelne Reduktionsmittel die Phosphormolybdänsäure zu einem blauen Farbstoff reduzieren, ohne auf die Molybdänsäure selbst zu wirken. Auf diese Weise ist es möglich, Phosphormolybdänsäure in Gegenwart eines beliebigen Überschusses Molybdänsäure zu kolorimetrieren (BELL und DOISY, Journ. of biol. Chem., **44**, 55, 1920). Die nach diesem Prinzip durchgeführte Phosphorbestimmung, die seither die man-

nigfachsten Modifikationen erfahren hat (vgl. hierüber die vollständige Literaturzusammenstellung im Sammelreferat von STREBINGER, Mikrochemie, 7, 125, 1929), kann ohne wesentliche Schwierigkeiten auch auf die Bestimmung des Magnesium-Ammoniumphosphats übertragen werden. Die ersten diesbezüglichen Versuche machte BRIGGS (Journ. of biol. Chem., **50**, XLVIII., 1922, ibidem, **52**, 349, 1922) unabhängig von der Methode von BELL und DOISY. Er führt die Reduktion mit 2%iger Hydrochinonlösung ohne Zusatz von Sulfiten durch. Das im wesentlichen ungeänderte Verfahren von BELL und DOISY wurde von DENIS (Journ. of biolog. Chem., **52**, 411, 1922), ferner auch von GADIENT (Helv. chim. Acta, 6, 729, 1923) auf die Magnesiumbestimmung im Blut übertragen und von KRAMER und HOWLAND (Journ. of biolog. Chem., **68**, 711, 1926) auch für die Magnesiumbestimmung im Knochen verwendet. Das rasche Abblassen der Farblösung läßt sich nach dem von HAMMETT und ADAMS (Journ. of biolog. Chem., **54**, 565, 1922) zur Magnesiumbestimmung angewendeten Verfahren durch Verwendung frischer Karbonatsulfitlösungen vermeiden. BRIGGS hat später gefunden, daß das Abblassen der Farblösungen in stark saurer Lösung ausbleibt. Sein für die Phosphorbestimmung ausgearbeitetes Verfahren wurde von STARY, KRAL und WINTERNITZ auf die Magnesiumbestimmung im Blut (Ztschr. f. d. ges. exp. Med., **66**, 671, 1929) und im Liquor cerebrospinalis (Ztschr. f. d. ges. Neurologie, **122**, 308, 1929) übertragen und hat sich namentlich für die Durchführung langer Versuchsserien sehr bewährt. An Stelle des Hydrochinons empfiehlt TSCHOPP (Helv. Chim. Acta, **10**, 834, 1927) die von FISKE und SUBBAROW (Journ. of biol. Chem., **66**, 375, 1925) für die Phosphorbestimmung angegebene 1, 2, 4-Aminonaphtholsulfosäure („Eikonogen") oder in späterer Mitteilung das Rodinal „Agfa" (Biochem. Ztschr., **203**, 267, 1928).

c) Weitere kolorimetrische Methoden zur Bestimmung des Magnesium-Ammonium-Phosphats, wie die Kolorimetrie des in dem Doppelsalz enthaltenen Ammoniums mittels des NESSLER'schen Reagens, können, da sie bisher keine größere Bedeutung für die Mikroanalyse erlangt haben, hier übergangen werden. (Vgl. CANALS, Bull. de la Soc. Chim. de France, **25**, 655, 1919.)

4. Die nephelometrische Bestimmung des Magnesium-Ammonium-Phosphats kann nach Überführung des Phosphats in phosphormolybdänsaures Strychnin erfolgen. (Näheres über die Strychninmolybdänfällung der Phosphorsäure siehe bei POUGET, CHOUCHAK, Bull. de la Soc. Chim., **4**, 164, 1909, KLEINMANN [FEIGL], Biochem. Ztschr., **99**, 154, 1919, EMBDEN, Ztschr. f. physiol. Chem., **113**, 138, 1921, BLOOR, Journ. of biol. Chem., **36**, 33, 1919, und das Sammelreferat von STREBINGER in Bd. **7** dieser Zeitschrift.)

Nach DENIS wird das auf die oben beschriebene Weise hergestellte, gewaschene und auf dem Wasserbad von überschüssigem Ammoniak befreite $Mg(NH_4)PO_4$ in n/10 Salzsäure gelöst, auf ein bekanntes Volum aufgefüllt und das Phosphat mit Hilfe des von BLOOR angegebenen Strychnin-Molybdän-Reagens gefällt. Die Intensität der dabei auftretenden Trübung wird nephelometrisch mit einer analog behandelten Standardlösung verglichen (DENIS, Journ. of biolog. Chem., **41**, 363, 1920).

5. Über die sedimetrische Bestimmung des Magnesium-Ammonium-Phosphats vergleiche ARRHENIUS und RIEHM, Medd. kgl. Vetenskapensakad. Nobelinst., 6, 69, 1926.

III. Fällung als Magnesium-Ammonium-Arsenat.

Wegen der leichten Reduzierbarkeit beim Glühen hat die gravimetrische Bestimmung des Magnesiums als Ammoniumarsenat nicht die Bedeutung wie die Bestimmung als Ammoniumphosphat. In neuerer Zeit ist jedoch an Stelle der Wägung als $Mg_2As_2O_7$ die Wägung als $Mg(NH_4)AsO_4$, $6\,H_2O$ von WINKLER (Ztschr. f. angew. Chem., **32**, 122, 1919) empfohlen worden, bei der die Trocknung bei relativ niedriger Temperatur erfolgt[3]).

Neuere Modifikationen der jodometrischen Bestimmung des Magnesiums als Arsenat sind von KLINGENFUSS (Ztschr. f. anorg. und allg. Chem., **138**, 195, 1924), ferner von TERESCHTSCHENKO und NEKRITSCH (Journ. Chim. de l'Ukraine, 2, 163, 1926) und von VONDRÁK (Listy cukrovarnické, **45**, 649, 1928) mitgeteilt worden.

[3]) Über die analoge Bestimmung des Magnesiums als $Mg(NH_4)PO_4$, $6\,H_2O$ vgl. S. 465.

Die Bestimmung des Magnesiums als Arsenat sowohl in ihrer gravimetrischen als auch in ihrer jodometrischen Form wird für mikrochemische Zwecke heute noch wenig verwendet. Über die Genauigkeit, die man mit Hilfe der Arsenatmethoden im Vergleich zu den anderen Bestimmungsmethoden des Magnesiums erreichen kann (vgl. CONGDON und VANDERHOOK, Chem. News, **130**, 241, 258, 273, 1925).

IV. Fällung als Magnesium-Ferrocyanid.

Die Fällbarkeit der Erdalkalimetalle als Ferrocyanide in schwach alkoholischer Lösung ermöglicht eine außerordentlich bequeme Bestimmung kleiner Mengen Magnesium auf nephelometrischem Wege. Die Fällung, die von FEIGL und PAVELKA (Mikrochemie, **2**, 85, 1924) in die Mikroanalytik eingeführt worden ist, erfolgt aus der auf n 100 oder noch mehr verdünnten Lösung, die man mit Alkohol auf das doppelte Volum bringt und auf 40 bis 50° erwärmt, durch Zusatz von etwas festem Ammonium-Ferrocyanid. Die entstehende Trübung wird mit einer Standard-Magnesiumtrübung verglichen. Zur Bestimmung eignet sich nach KRISS (Biochem. Ztschr., **162**, 360, 1925) das KLEINMANN'sche Nephelometer, doch kann die Bestimmung auch turbidometrisch (vgl. DENIS, Journ. of biolog. Chem., **47**, 27, 1921) unter Verwendung eines beliebigen Kolorimeters erfolgen (FEIGL und PAVELKA, l. c.). Calcium gibt mit Ammonium-Ferrocyanid eine ähnliche Fällung, muß daher, wenn Magnesium bestimmt werden soll, vorher aus der Lösung entfernt werden.

Die Fällbarkeit des Magnesiums durch Ferrocyanide ist auch für eine titrimetrische Bestimmungsmethode ausgewertet worden. (Zusatz eines Überschusses von Ferrocyankalium und Rücktitration mit Zinksulfat, Tüpfeln mit Uranyllösung. [Vgl. BULLI und FERNANDES, Annali Chim. Appl., **13**, 46, 1923.] Über die Fällbarkeit des Magnesiums als Ferrocyanid vgl. auch DIAZ DE RADA, Annales Soc. esp. fis. quim., **24**, 442, 1926.)

V. Fällung des Magnesiums als fettsaures Salz.

Die von LYMAN (Journ. of biolog. Chem., **21**, 551, 1915, und ibidem, **29**, 169, 1917) verwendete Fällung durch fettsaure Salze

war zunächst nur für die Bestimmung des Calciums bestimmt. Rona und Kleinmann (Biochem. Ztschr., **137**, 157, 1923) zeigten später, daß durch das von ihnen verwendete Natriumsulforicinat auch Magnesium, und zwar auch aus sehr verdünnter Lösung (0,2 mg%) ausgefällt wird. Calcium stört und muß bei Magnesiumbestimmungen vorher entfernt werden. Nach Kriss (Biochem. Ztschr., 158, 203, 1925) gelingt die Fällung nur in Abwesenheit von Ammonsalzen.

Eine kolorimetrische Bestimmung des Magnesiums beruht weiters auf der schwach gelben Färbung des kolloidalen Magnesiumoleats. Nach Gregoire und Sola (Bull. de la Soc. Chim. Belgique, **32**, 131, 1923) können auf diese Weise noch 0,0045 mg Magnesium in 50 ccm Lösung bestimmt werden.

Mirkin und Druskin (Journ. of laborat. and clin. med., **8**, 334, 1923) fällen aus Lösungen, die Calcium und Magnesium enthalten, beide Erdalkalimetalle gemeinsam als Stearate aus, filtrieren im Goochtiegel, trocknen bei 120 bis 130° und wägen. Der gewogene Rückstand wird mit gestellter überschüssiger n/10 Schwefelsäure aufgenommen und mit Natronlauge gegen Methylorange zurücktitriert. Aus dem Gewicht und dem Säureverbrauch des Niederschlags wird der Calcium- und Magnesiumgehalt auf indirektem Wege ermittelt. (Über das große Fehlerinkrement dieser Methode vgl. Stary, Mikrochemie, **8**, 201, 1930.)

VI. Fällung als Magnesium-Oxychinolat.

Vor den meisten anderen Fällungsmethoden hat die Fällung mit Oxychinolin den Vorteil, daß nicht nur die Alkalimetalle nicht stören, sondern auch Calcium, Barium und Strontium in ammonsalzhaltigen Lösungen nicht mitgefällt werden. Die Bestimmung des Magnesium-Oxychinolats kann auf gravimetrischem Wege entweder direkt als Oxychinolat erfolgen, wobei auf den je nach der Trocknungsweise verschiedenen Wassergehalt geachtet werden muß, oder aber nach Zusatz von fester Oxalsäure und Verglühen des Niederschlags als Magnesiumoxyd (Berg, Ztschr. f. analyt. Chem., **71**, 30, 1927).

Die Fällung geschieht in Gegenwart von Ammonsalzen und überschüssigem Ammoniak durch Zugabe der alkoholischen Oxy-

chinolinlösung (ein Überschuß der Oxychinolinlösung ist an der Gelbfärbung der Lösung zu erkennen). Nach längerem Stehen auf dem Wasserbad läßt man erkalten und filtriert durch einen Glasfiltertiegel. Das Trocknen kann nach BERG bei 100° erfolgen, wobei das Magnesiumoxychinolat mit zwei Molekülen Wasser nach zirka zwei Stunden gewichtskonstant wird. Bei 130° wird das Oxychinolat nach 4 bis 8 Stunden wasserfrei und gewichtskonstant. Von 140° an tritt nach BERG bereits Zersetzung ein. HAHN und VIEWEG (Ztschr. analyt. Chem., **71**, 122, 1927) schreiben dagegen vor, das Oxychinolat nach dem Vortrocknen bei einer Temperatur von 140 bis 160° konstant werden zu lassen.

a) In die Mikroanalyse ist die gravimetrische Bestimmung als Oxychinolat von STREBINGER und REIF (Pregl-Festschrift, Mikrochemie, 1929, S. 319) eingeführt worden. Das einfache Trocknen und das große Molekulargewicht des Niederschlages machen die Oxychinolinfällung zu einer idealen Mikromethode.

Nach STREBINGER wird die Magnesiumlösung, eventuell das Filtrat, von der Oxalatfällung des Calciums nach Zusatz von festem Ammonchlorid und einigen Tropfen Ammoniak bei 70° mit 1%iger alkoholischer Oxychinolinlösung gefällt und nach 20 Minuten durch ein PREGL'sches Filterröhrchen abfiltriert. Die Wägung erfolgt nach 10 Minuten langem Trocknen bei 105° im PREGL'schen Trockenblock. Wägungsform $Mg(C_9H_6ON)_2 . 2\,H_2O$. STREBINGER und REIF konnten mit Hilfe dieser Methode noch 0,2 mg Magnesium mit einer Genauigkeit von 0,15% bestimmen.

b) Zur maßanalytischen Bestimmung des Magnesiumoxychinolats stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Da sich Oxychinolin nach Art eines Phenols bromieren läßt, kann das gewaschene und in HCl gelöste Magnesiumoxychinolat mit Bromid-Bromat-Lösung titriert werden. Der Überschuß wird entweder mit Hilfe von Indigokarmin als Indikator erkannt oder nach Zusatz von Jodkali mit Thiosulfatlösung zurücktitriert (BERG). Ferner kann das Oxychinolat nach HAHN und HARTLEB (Ztschr. analyt. Chem., **71**, 230, 1927) acidimetrisch bestimmt oder aber direkt mit Oxychinolinlösung titriert werden. Im letzteren Falle wird ein Überschuß von Oxychinolin durch Tüpfeln auf Diazo-Benzol-Sulfosäure-Papier erkannt. (HAHN und VIEWEG, Ztschr. analyt. Chem., **71**, 124, 1927.)

c) Kolorimetrisch kann die Mikrobestimmung des Oxychinolats nach YOSHIMATSU durchgeführt werden. Oxychinolin reduziert in alkalischer Lösung Phenolreagens nach FOLIN und DENIS unter intensiver Blaufärbung, deren Intensität der Menge des vorhandenen Oxychinolins proportional ist. (YOSHIMATSU, Tohoku Journ. exper. Med., **14**, 29, 1929.)

Die Methode nach YOSHIMATSU ist in erster Linie für die Bestimmung des Magnesiums im Blut bestimmt. Notwendige Magnesiummenge zirka 0,02 mg; mittlerer Fehler 2,5% des Wertes. Die Methode ist die einzige, bei der das Calcium nicht vorher gefällt und entfernt werden muß. — Einige Fehlerquellen der Magnesiumbestimmung nach YOSHIMATSU sind neuerdings von EICHHOLTZ und BERG (Biochem. Ztschr., **225**, 352, 1930) aufgezeigt und Mittel zu ihrer Vermeidung mitgeteilt worden.

Über die Verwendung der Oxychinolinmethode in der Silikatanalyse vgl. ROBITSCHEK (Chemický obzor, **2**, 325, 1927). (Bromometrische Titration.)

VII. Bestimmung als Magnesiumhypojodit.

Die schon von SCHLAGDENHAUFEN (Z. d. österr. Apoth. Ver., **16**, 348, 1878) angegebene, aber sonst in der Analyse wenig verwendete Farbreaktion des Magnesiums mit Hypojoditen (Braunfärbung) ist neuerdings von DENIGÈS (Compt. rend. Acad. Sciences, **175**, 1206, 1922) auch zu einer kolorimetrischen Bestimmung kleiner Mengen Magnesium verwendet worden. 0,05 ccm der untersuchten Magnesiumlösung (mit dem geeichten Tropfenzähler abgemessen) wird mit 5 cc Wasser und 0,5 ccm 10%iger Jodkaliumlösung versetzt, durchgemischt und zwei Tropfen frisch bereiteter verdünnter Hypobromitlösung zugegeben. Es tritt eine kolloidale Braunfärbung ein, die im Aussehen am Ferrihydroxyd erinnert und die durch Vergleich mit einer Serie von Standardlösungen steigenden Magnesiumgehalts kolorimetriert wird. 2 bis 3 Minuten nach Zugabe des Reagens muß abgelesen werden, da nach zirka 15 Minuten bereits Flockung eintritt.

Die zur Bestimmung notwendige Magnesiummenge beträgt zirka 0,05 mg Magnesium. Näheres über die Reaktion von SCHLAGDENHAUFEN siehe bei BELLIER (Journ. Pharm. Chim. [6], **23**, 378, 1906) und GRIMBERT (Journ. Pharm. Chim. [6], **23**, 237, 1906).

VIII. Bestimmung mit 1, 2, 5, 8-Tetraoxyanthrachinon.

Die im qualitativen Teil besprochene Farbreaktion des Magnesiums mit 1, 2, 5, 8-Tetraoxyanthrachinon kann auch zur kolorimetrischen Schätzung des Magnesiums dienen. Gleichzeitig mit der Zugabe des Farbreagens zur Versuchslösung stellt man sich aus einer Reihe von Vergleichsproben bekannten Magnesiumgehalts eine Vergleichsskala her, in die dann die Versuchslösung je nach der Farbintensität eingeordnet wird. 5 bis 12 % Magnesium können auf diese Weise auf zirka 1 % genau bestimmt werden. Einzelheiten vgl. bei HAHN, Pregl-Festschrift, Mikrochemie, S. 127, 1929.

IX. Bestimmung mit Tropäolin 00.

Eine kolorimetrische Methode zur Bestimmung des Magnesiums beruht auf der Fällung des Magnesiumions durch Tropäolin 00. Zu der Magnesiumlösung wird eine gemessene Menge Farbstofflösung hinzugegeben, die Fällung abzentrifugiert, der Rest des Farbstoffes in der überstehenden Lösung colorimetriert. Optimale p_H für die Fällung 7—7,5 . 1 mg Magnesium fällt 2 mg Tropäolin. Organisches Material muß vorher verascht werden (Abrauchen mit Schwefelsäure und Glühen). Oxalate und Calcium stören die Bestimmung nicht, andere Salze nur wenig. (ZAHRADNIČEK, Biochem. Ztschr., **191**, 61, 1927.)

X. Bestimmung mit Titangelb.

Als höchst empfindliches Reagens für die kolorimetrische Bestimmung ganz kleiner Mengen Magnesium ist von KOLTHOFF (Chem. Weekbl., **24**, 254, 1927) das Titangelb empfohlen worden, das an Magnesiumhydroxyd mit roter Farbe fixiert wird. Zink, Zinn und Aluminium stören. Die Beeinflussung der Farbreaktion durch Calciumsalze kann ausgeschaltet werden, wenn man die Standardlösungen selbst mit 10 mg% Calcium versetzt.

XI. Spektroskopische und potentiometrische Bestimmungsmethoden.

Die spektrophotometrische Methode der Magnesiummikrobestimmung ist von EULER, HELLSTRÖM und RUNEHJELM (Ztschr. physiol. Chem., **87**, 127, 1930) erprobt wor-

den. Die Fehler waren sechsmal größer als die der gleichzeitig von den Autoren geprüften kolorimetrischen Mikromethode nach HAHN.

Methoden zur potentiometrischen Titration des Magnesiums sind neuerdings von TREADWELL (Helv. chim. Acta, **13**, 500, 1930) mitgeteilt worden.

Quantitative Bestimmung des Calciums.

Von **Zdenko Stary**, Prag.

Die Mikrobestimmung des Calciums gehört zu den am eifrigsten studierten Arbeitsgebieten der Mikroanalyse. In den letzten Jahren sind mehr als 90 experimentelle Untersuchungen veröffentlicht worden, die sich mit der Ausarbeitung und Prüfung von Mikromethoden zur Calciumbestimmung beschäftigt haben. Die Anzahl wissenschaftlicher Arbeiten, deren Ergebnisse unter Verwendung von Calciummikrobestimmungen erhalten worden sind, dürfte heute bereits das Zehnfache betragen. Durch diese Bemühungen ist es bereits möglich geworden, Calciummengen in der Größenordnung 10^{-5} g (= 0,01 mg) mit relativ einfachen Mitteln und mit einer Fehlergrenze in der Größenordnung 10^{-7} g (= 0,1 γ) zu bestimmen. Mengen von 0,1 mg können bereits mit weniger als 1% Fehler bestimmt werden.

Die Auswahl der Methode richtet sich nach Art und Menge der Begleitstoffe, die das untersuchte calciumhaltige Material enthält. In Abwesenheit anderer, nicht flüchtiger Bestandteile wird man kleine Mengen Calcium in der Regel als Sulfat oder Oxyd bestimmen. Die Überführung von Nitrat und Chlorid in Oxyd gelingt am besten durch Abdampfen mit überschüssiger Oxalsäure. Das zurückbleibende Oxalat wird durch Glühen in Oxyd übergeführt. (Einzelheiten siehe bei MALJAROFF, Mikrochemie, **6**, 92, 1928.) Die Überführung in Sulfat ist für organische Calciumsalze von PREGL (Quantitative organische Mikroanalyse) verwendet worden.

In Anwesenheit von Alkalimetallen oder Magnesiumsalzen kann das Calcium durch eine Reihe von Fällungsmethoden abgeschieden werden. Die Schwermetalle, namentlich wenn sie in größeren Mengen vorhanden sind, wird man vor der Fällung des Calciums meist entfernen, doch ist dies bei einzelnen Methoden und bei kleineren Mengen einzelner Schwermetalle nicht immer nötig. Von den Erd-

alkalimetallen fällt man Barium zweckmäßig vorher als Chromat und bestimmt im Filtrat das Calcium als Oxalat (STREBINGER), die Trennung vom Strontium erfolgt am besten durch Extraktion der bei 180° getrockneten, wasserfreien Nitrate mit absolutem Alkohol (Nachwaschen mit Isobutylalkohol), wobei das Calciumsalz in Lösung geht und das Strontiumsalz ungelöst zurückbleibt. (SZEBELLEDY, Magyar. chem. Folyoirat, **35**, 59, 1930.)

Zur gravimetrischen Bestimmung kann das Calcium u. a. in folgende Wägungsformen übergeführt werden:

1. Calciumoxyd, 1 mg CaO entspricht 0,7147 mg Ca.
2. Calciumcarbonat, 1 mg $CaCO_3$ entspricht 0,4004 mg Ca.
3. Calciumoxalat (wasserfrei), 1 mg $Ca(CO_2)_2$ entspricht 0,3128 mg Ca.
4. Calciumoxalat mit einem Mol. Wasser, 1 mg $Ca(CO_2)_2$, H_2O entspricht 0,2742 mg Ca.
5. Calciumsulfat (wasserfrei), 1 mg $CaSO_4$ entspricht 0,2944 mg Ca.
6. Calciumsulfat mit zwei Mol. Wasser, 1 mg $CaSO_4$, $2\,H_2O$ entspricht 0,2327 mg Ca.

Maßanalytisch kann Calcium u. a. bestimmt werden:

1. Acidimetrisch als CaO, $CaCO_3$ oder $Ca_3(PO_4)_2$.
   1 cc n/10 Säure entspricht 2,003 mg Ca.
2. Manganometrisch (bezw. jodometrisch) als Calciumoxalat.
   1 cc Kaliumpermanganat entspricht 2,003 mg Ca.
3. Acidimetrisch als Calcium-Kalium-Nickelnitrit durch Reduktion und Destillation des Ammoniaks.
   1 cc n/10 Säure entspricht 0,668 mg Ca.
4. Jodometrisch als $CaSO_3$.
   1 cc n/10 Thiosulfat entspricht 2,003 mg Ca.

I. Bestimmung des Calciums als Oxyd oder Hydroxyd.

Der Bestimmung des Calciums als Oxyd wird in der Regel erst die Isolierung in einer anderen Isolierungsform — meist als Oxalat, bei der Trennung vom Strontium eventuell als Calciumnitrat — vorhergehen müssen. Zu beachten ist, daß das geglühte

Calciumoxyd im Exsikkator nicht über Natronkalk oder Calciumchlorid stehengelassen werden darf, da sonst eine erhebliche Gewichtszunahme erfolgt. Am besten bewährt sich für die Füllung des Exsikkators Phosphorpentoxyd oder frisch gebrannter Kalk. (Franke und Dworzak, Ztschr. analyt. Chem., **72**, 129, 1927.)

Außer der Abscheidung des Calciums aus der wässerigen Lösung kommt bei Abwesenheit von Schwermetallen und Erdalkalien für das Chlorid und Nitrat auch die Isolierung als Carbonat durch Abrauchen mit fester Oxalsäure in Betracht. Das hierbei entstehende Oxalat wird, wie oben beschrieben, beim vorsichtigen Glühen in unlösliches Carbonat übergeführt, das sich durch Extraktion mit Wasser leicht von den löslichen Carbonaten der Alkalimetalle isolieren und titrimetrisch bestimmen oder aber nach abermaligem Erhitzen wägen läßt. (Maljaroff, Mikrochemie, **6**, 92, 1928.)

Die titrimetrische Bestimmung kleiner Mengen CaO geht in der Regel so vor sich, daß man zunächst in einem kleinen Überschuß gestellter Säure löst und den nicht verbrauchten Säureüberschuß zurücktitriert. (Jansen, Ztschr. physiol. Chem., **101**, 176, 1918, Hamilton, Journ. biolog. Chem., **65**, 101, 1925, Mikromethoden, vgl. ferner Pfyl und Samter, Ztschr. Unters. Nahr.- u. Genußmittel, **46**, 241, 1924.)

Zur direkten acidimetrischen Bestimmung von Ca als $Ca(OH)_2$ ist von Willstätter und Waldschmidt-Leitz (Ber. d. D. chem. Ges., **56**, 488, 1923) die Titration von Calciumsalzen in Aceton angegeben worden: In 85- bis 90%igem Aceton ist $Ca(OH)_2$ so schwer löslich, daß es gegen Thymolphthalein nicht mehr alkalisch reagiert. Wird eine neutrale Calciumsalzlösung mit NaOH in gemessenem Überschuß versetzt, so wird durch das Anion des Calciumsalzes eine der vorhandenen Calciummenge äquivalente Alkalimenge gebunden, während das Calciumhydroxyd ausfällt. Da das dabei entstehende Calciumhydroxyd in 90%igem Aceton auf Thymolphthalein nicht wirkt, kann der Rest der zugesetzten Alkalimenge titrimetrisch bestimmt werden.

Über die Bestimmung von Calcium in Gestein auf acidimetrischem Wege vgl. Pierce und Setzer (Industr. a. Engin. Chem., **20**, 436, 1928).

II. Bestimmung des Calciums als Carbonat.

Die gravimetrische Bestimmung des Calciums als Carbonat gibt in der Makroanalyse gute Resultate und wird in der vergleichenden Zusammenstellung von Ewe (Amer. Journ. Pharmac., **92**, 401, 1920), ferner von Congdon, Eddy und Milligan (Chem. News., **128**, 244, 1923) als eine der genauesten Methoden der Calciumbestimmung genannt.

In der Mikroanalyse wird meist dem titrimetrischen Verfahren der Vorzug gegeben, das nach vorheriger Fällung des Calciums als Oxalat und Überführung in Carbonat von Hendriks (Biochem. Journ., **23**, 1206, 1929), Patterson (Biochem. Journ., **24**, 355, 1930), Lebermann (Münchner med. Wochenschr., **71**, 1392, 1924). Trevan und Bainbridge (Biochem. Journ., **20**, 423, 1926) verwendet wird. (Vgl. hierüber die Oxalatmethoden, s. u.)

Seltener wird zur Analyse von Calciumverbindungen die Bestimmung der beim Glühen des Calciumcarbonats entwickelten Kohlensäure verwendet, die durch den Gewichtsverlust des geglühten Karbonats oder durch Wägung der aus dem Karbonat entwickelten Kohlensäure in einer mit Kalilauge gefüllten Vorlage bestimmt werden kann.

III. Bestimmung des Calciums als Oxalat.

α) Die Fällung des Calciumoxalats und die Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials.

Trotz der ungemein zahlreichen Untersuchungen über das Calciumoxalat und die Kinetik sowie die Bedingungen seiner quantitativen Fällung besteht über die Ausführung der Methode in der Literatur keine völlige Übereinstimmung. Die physikalisch-chemischen Verhältnisse sind bei der Abscheidung des Calciumoxalats aus einer magnesiumhaltigen Lösung namentlich dadurch kompliziert, daß auch das Magnesiumoxalat verhältnismäßig schwer in Wasser löslich ist und nur durch Bildung von Komplexsalzen, bezw. durch Bildung einer übersättigten Lösung am Ausfallen gehindert wird. Neuerdings ist die Kinetik der Abscheidung von Magnesiumoxalat aus übersättigter Lösung — namentlich die Verlängerung der Übersättigungsperiode durch Ammonsalze von Herrmann (Ztschr. f. anorg. und allgem. Chem., **182**, 395, 1929,

ferner ibidem, **184**, 289, 1929) ausführlich studiert worden. Weitere Untersuchungen hierüber vgl. bei BONTELSKY und MALKOWA-JANOWSKA (Ztschr. f. angew. Chem., **40**, 1434, 1927), ferner bei W. M. FISCHER (Ztschr. anorg. und allg. Chem., **153**, 62, 1926) über Stabilisierung der übersättigten Magnesiumoxalatlösung durch Farbstoffe u. a.

Die Durchführung der Fällung in essigsaurer Lösung, wie sie in letzter Zeit z. B. von NOLL (Chemiker Ztg., **49**, 1071, 1925), GROSS (Chemist-Analyst, **8**, 1926), MELLET und JUNKER (Schweiz. Apoth.-Ztg., **62**, 429, 647, 1924), STEINHÄUSER (Ztschr. analyt. Chem., **78**, 181, 1929) u. a. m. verwendet wurde, wird z. B. von LUFF (Ztschr. analyt. Chem., **65**, 439, 1925) angegriffen, der mit dieser Methode auch bei Gegenwart von Ammonsalzen im Überschuß ein Mitfallen von Magnesiumoxalat beobachtete.

Den nach den „gebräuchlichen Mikromethoden" — also offenbar durch Fällung in essigsaurer Lösung — gewonnenen Calciumoxalatniederschlag haben FABRE und DETROIS (Compt. rend. de la soc. biolog., **91**, 1127, 1927) spektroskopisch untersucht und Magnesiumlinien nachgewiesen. Die genauere Angabe der Fällungsmethode fehlt.

Daher ist für die Bestimmung kleiner Calciummengen zunächst die Fällung in alkalischer Lösung bevorzugt worden, wie sie ja auch in der Makroanalyse, z. B. nach der Vorschrift von FRESENIUS, vielfach in Verwendung steht. So fällt MAZZOCCO (Compt. rend. de la soc. biolog., **85**, 689, 1921) Mikromengen in alkalischer Lösung und auch BENEDETTI-PICHLER (Ztschr. analyt. Chem., **64**, 420, 1924) fällt, dem Vorgange von RICHARDS, CAFFREY und BISBEE (Ztschr. anorg. Chem. **28**, 71) folgend, in ammoniakalischer Lösung (vgl. auch STILLER, Chem. Ztg., **54**, 422, 1930).

Für viele Verwendungsgebiete der Mikroanalyse ist die Fällung in alkalischer Lösung jedoch nicht zweckmäßig, sie wird z. B. durch das im biologischen Untersuchungsmaterial fast stets vorhandene Eisen gestört, auch nach vorhergegangener Fällung des Bariums mit Chromat ist die Calciumoxalatfällung in essigsaurer Lösung unbedingt vorzuziehen. (STREBINGER, Mikrochemie, **7**, 100, 1929; vgl. auch BARLOT (Bull. Soc. chim. France, **35**, 1026, 1924.)

In Anwesenheit von Magnesium muß der Überschuß des Ammonoxalats groß genug sein, um alles vorhandene Magnesium in Magnesiumoxalat überzuführen. Szebelledy schlägt daher vor, das Ammonoxalat durch das besser lösliche Kaliumoxalat zu ersetzen (Ztschr. analyt. Chem., **70**, 39, 1927). Ein sehr großer Überschuß von Ammonoxalat, wie er von Bontelsky und Malkowa-Janowska (Ztschr. angew. Chem., **40**, 1434, 1927) empfohlen wurde, ist (Hall, Journ. Amer. chem. Soc., **50**, 2704, 1928) für eine eventuell nachfolgende Bestimmung des Magnesiums als Magnesiumammoniumphosphat von Nachteil. Nach Hecht (Biochem. Ztschr., **143**, 342, 1923) wird die Bestimmung von 0,1 bis 4,0 mg Calcium als Oxalat von Magnesiummengen bis zu 7 mg und Eisenmengen bis zu 10 mg nicht gestört. Magnesium und Eisen gleichzeitig dürfen bis zu einer Gesamtmenge von 7 mg anwesend sein. Eventuell vorhandenes Eisen muß jedoch als Ferrisalz vorhanden sein, da Ferrioxalat leichter löslich ist (Barlot, Bull. Soc. chim. France, **35**, 1026, 1924).

Um zu verhindern, daß bei der Fällung des Calciumoxalats das Magnesiumoxalat aus seiner übersättigten Lösung mit ausfällt, setzt Mankin (Canc. Research Comm. Univ. Sidney, **2**, 14, 1930) der Lösung eine kleine Menge ½%iger Gelatinelösung als Schutzkolloid zu. Nach Canals kann mitgerissenes Magnesiumoxalat durch heißes Wasser aus der Fällung wieder herausgelöst werden (Bull. Soc. chim. France, **29**, 152, 1921).

Auf die Wichtigkeit der Einhaltung einer bestimmten Wasserstoffionenkonzentration bei der Mikrofällung des Calciumoxalats hat namentlich Shohl (Journ. biol. Chem., **50**, 537, 1922) hingewiesen. Die Reaktion ist zwischen pH 4 und pH 5,6 zu halten, saurere Reaktion bewirkt Lösung von Calciumoxalat, alkalischere Reaktion bei Anwesenheit von Phosphaten Ausfallen von Magnesium-Ammonium-Phosphat.

Wird die Calciumoxalatfällung bei pH 4 vorgenommen, so gelingt nach Chapman (Soil Sci., **26**, 478, 1928) auch die quantitative Trennung von Aluminium, Titan und Mangan leicht. Um die pH während der Fällung konstant zu halten, empfehlen Stanford und Wheatley (Biochem. Journ., **19**, 710, 1925) Zusatz einer Natriumacetatpufferlösung. Als Indikator zum Vergleich mit einer Standardpufferlösung bekannter Wasserstoffionenkonzen-

tration empfehlen SHOHL und PEDLEY (Journ. biolog. Chem., **50**, 540, 1921) Methylrot, KRAMER und HOWLAND (Journ. biolog. Chem., **68**, 711, 1926) benützen Bromkresolblau, VAN SLYKE und SENDROY (Journ. biol. Chem., **84**, 221, 1929) Bromkresolgrün.

Nach HENDRIKS (Biochem. Journ., **23**, 1206, 1929) kann man die Okklusion von Magnesium bei der Mikrobestimmung des Calciums durch ein besonders langsames Ausfällen des Calciumoxalats verhindern. Zu diesem Zwecke wird die Oxalsäure in Gegenwart von Salzsäure und eines großen Überschusses von Ammoniumchlorid hinzugegeben und mit kleinen Mengen (0,1 cc) einer 0,2-n. Ammoniaklösung auf pH 8 gebracht, und zwar in der Weise, daß nach jedem Zusatz 5 Minuten zugewartet wird. Eingehende Untersuchungen über die Verhinderung der Okklusion von Magnesiumsalzen durch protrahierte Fällung des Calciumoxalats hat neben älteren Arbeiten von RICHARDS, CAFFREY und BISBEE (Ztschr. anorg. Chem., **28**, 71) in neuerer Zeit FISCHER (Ztschr. anorg. Chem., **153**, 62, 1926) mitgeteilt. (Namentlich bezüglich Trennung kleiner Mengen Calcium von größeren Mengen Magnesium.) Den Einfluß, den die Geschwindigkeit des Oxalatzusatzes auf die Reinheit der Fällung hat, untersuchte ferner GROSS (Chemist-Analyst, 8, 1926).

In der sehr verdünnten Lösung, wie sie in der Mikroanalyse so gut wie immer vorliegt, geht die quantitative Fällung des Calciumoxalats nicht momentan vor sich. Über die Länge des Zeitraumes, der zwischen der Fällung und der Abtrennung des Niederschlages von der überstehenden Lösung verstreichen muß, ist in den letzten Jahren viel diskutiert worden. KRAMER und TISSDALL (Journ. biol. Chem., **47**, 475, 1921) warten 30 Minuten, nach CLARK (Journ. biol. Chem., **49**, 487, 1921) reicht dieser Zeitraum nicht aus, was in der Entgegnung eines der Autoren (TISSDALL, Journ. biol. Chem., **56**, 439, 1923) bestritten, in neuerer Zeit aber durch PINCUSSEN (Biochem. Ztschr., **183**, 42, 1927) wieder betont wird[1]). Vgl. diesbezüglich auch HAMILTON (Journ. biol. Chem., **65**, 101, 1925), CLARK und COLLIP (Journ. biol. Chem., **63**, 462, 1924, Fußnote; ferner HJORT, ROBISON und TENDICK (Journ. biol. Chem., **65**, 119, 1925). Nach RICHARDS, CAFFREY und BIS-

[1]) Namentlich in stark eiweißhaltiger Lösung scheint das Ausfallen des Oxalats stark verzögert zu sein.

BEE (l. c.) wartet man zwischen Fällung und Filtration am besten einige Stunden, allzu langes Stehen kann nach diesen Untersuchern direkt zu Fehlern führen.

Calciumoxalat ist in Ammonoxalatlösungen fast unlöslich, in Wasser hingegen, namentlich bei höherer Temperatur, nicht unbeträchtlich löslich[2]). Trotzdem ist die Benützung von Ammonoxalat als Waschflüssigkeit nur dann möglich, wenn das gefällte Calciumoxalat nachher bei höherer Temperatur in Carbonat oder in Oxyd umgewandelt wird, wobei das Ammonoxalat verdampft. (Gewichtsanalytische und acidimetrische Methoden.) In allen übrigen Fällen, insbesondere bei der Permanganattitration, wäscht man mit oxalatfreien Gemischen, meist mit 2%igem Ammoniak. Daher ist die Anzahl der Waschungen bei jeder der Methoden vorgeschrieben und muß streng eingehalten werden, offenbar um das experimentell ermittelte Optimum der Fehlerkompensation zu erhalten. TWEEDY und KOCH (Journ. lab. clin. a. med., **14**, 747, 1929) haben daher den Vorschlag gemacht, als Waschflüssigkeit gesättigte Calciumoxalatlösung zu verwenden. MELLI (Policlinico, **34**, 510, 1927) hat Alkohol, VELLUZ und DESCHASEAUX (Compt. rend. de la soc. Biol., **104**, 976, 977, 1930) eine Mischung von gleichen Teilen Alkohol und Äther als Waschflüssigkeit vorgeschlagen.

Daß Strontiumsalze, wenn sie zu therapeutischen oder experimentellen Zwecken in den lebenden Organismus eingebracht worden sind und ins Blut gelangen, die Mikrobestimmung des Calciums stören, liegt auf der Hand. Nach FAY (Amer. Journ. Physiol., **77**, 73, 1926) gelangt bei der üblichen Methode der Calciumfällung zirka ein Drittel des anwesenden Strontiums in die Oxalatfällung hinein. Nach HODEL (Helv. chim. Acta, **8**, 514, 1925) wird anwesendes Strontium zwar durch die Oxalatfällung quantitativ mitgefällt, kann aber auf indirektem Wege bestimmt und von der Gesamtmenge der Erdalkalien in Abzug gebracht werden. Hierzu wird das Gemisch der Oxalate zuerst gewogen,

[2]) In einem Liter Wasser lösen sich bei 95° 14 mg, bei 50° 10 mg, bei 25° 6,8 mg Calciumoxalat. (Vgl. RICHARDS, CAFFREY und BISBEE, l. c.) Korrekturfaktoren für die Löslichkeit des Calciumoxalats bei der Mikrobestimmung siehe bei GRIGAUT und ORNSTEIN (Compt. rend. Soc. Biolog., **104**, 407, 2930). Vgl. auch HESTREZAT, Bull. soc. chim. biol., **5**, 263, 1923.

dann aber sein Permanganatverbrauch ermittelt. Aus dem höheren Äquivalentgewicht des Strontiums ergibt sich der Strontiumgehalt des untersuchten Niederschlags. Über das Fehlerinkrement der indirekten Methoden siehe das Sammelreferat von STARY, Mikrochemie, **8**, 201, 1930). Über die Trennung von Calcium in Strontium vgl. S. 508.

Ob die Anwesenheit organischer Substanzen, namentlich die Anwesenheit von Eiweißkörpern, die Mikrobestimmung des Calciums als Oxalat stören, ist eine viel umstrittene Frage. Die älteren Methoden der Mikrobestimmung des Calciums als Oxalat arbeiten durchweg mit Calciumlösungen, die frei sind von größeren Mengen organischer Substanz. Sind organische Substanzen, z. B. Eiweißkörper, in so großen Mengen vorhanden, wie das im Blute der Fall ist, so muß die Zerstörung der organischen Substanz der eigentlichen Bestimmung vorausgeschickt werden.

DE WAARD (Biochem. Ztschr., **97**, 176, 1919), KRAMER und HOWLAND (Journ. biol. Chem., **43**, 35, 1920), ALPORT (Biochem. Journ., **18**, 455, 1924), VELLUZ und DESCHASEAUX (Compt. rend. Soc. Biolog., **104**, 977, 1930) u. a. veraschen das Blutserum daher im Platintiegel und nehmen die Asche in Säure auf. PINCUSSEN und CRONHEIM (Biochem. Ztschr., **171**, 42, 1926) veraschen durch Erhitzen mit HNO_3 und H_2O_2. BEBER und PINTO (Journ. Labor. clin. a. med., **15**, 693, 1930) gehen analog bei der Calciumbestimmung im Eiter vor.

Auf jeden Fall aber stellt die Veraschung einen besonders zeitraubenden Teil des Bestimmungsverfahrens dar. Man hat daher versucht, statt dessen die Eiweißkörper auszufällen und das Calcium im Filtrat zu bestimmen. HALVERSON und BERGEIM (Journ. biolog. Chem., **24**, 22, 1916, ibidem **32**, 159, 1917) enteiweißen mit Pikrinsäure, STANFORD und WHEATLEY (Biochem. Journ., **19**, 710, 1925) fällen die Eiweißkörper mit Trichloressigsäure, ebenso VAN SLYKE und SENDROY (Journ. biolog. Chem., **84**, 217, 1929). — Die wohl am häufigsten verwendeten Verfahren, wie die Methode von CLARK (Journ. biolog. Chem., **49**, 487, 1921), ferner das Verfahren von KRAMER und TISSDALL (Journ. biolog. Chem., **47**, 475, 1921) u. a., fällen das Calciumoxalat hingegen im nativen, nicht enteiweißten Serum. —

Vergleichsanalysen von Calciummikrobestimmungen im veraschten oder unveraschten biologischen Material (Blut) teilt MYRBÄCK (Ztschr. physiol. Chem., **148**, 197, 1925) mit. Er erhielt mit beiden Methoden übereinstimmende Werte. Da bei der Fällung im eiweißreichen und fetthaltigen Serum auch Spuren von Eiweiß oder Fett in den Niederschlag hineingelangen (HIRTH und KLOTZ, Compt. rend. soc. biol., **88**, 49, 1923, und **89**, 1153, 1923, BLÜHDORN und GENCK, Biochem. Ztschr., **135**, 581, 1923), anderseits aber die vollständige Fällung des Calciumoxalats durch Eiweiß gehemmt wird, beruht es nach den genannten Autoren auf Fehlerkompensation, wenn man bei der Fällung im nativen Serum trotzdem richtige Resultate erhält. Gegen die Fällung im unveraschten Material sprechen sich ferner aus: JONKERS und REVERS (Ztschr. physiol. Chem., **144**, 181, 1925), BRILL (Biochem. Ztschr., **216**, 344, 1929). Nach PINCUSSEN und SCHIMMELPFENG (Biochem. Ztschr., **183**, 42, 1927) erhält man bei 24stündigem Stehenlassen der Fällung im unveraschten Blutserum jedoch ebenfalls richtige Werte.

Spezialmethoden zur Mikrobestimmung von Calcium in Milch sind von ROTHWELL ausgearbeitet worden (Kuhmilch, Journ. biol. Chem., **65**, 129, 1925, Frauenmilch, ibidem **77**, 23, 1927). Im Harn stören größere Mengen von Harnsäure die Bestimmung. SHOHL und PEDLEY empfehlen die Zerstörung der Harnsäure mit Persulfat und Salpetersäure. TISSDALL und KRAMER (Journ. biol. Chem., **48**, 1, 1921) dampfen Harn in Platinschalen ein und glühen. Organe und tierische Gewebe müssen zerstört werden. Trockene Veraschung empfiehlt HECHT (Biochem. Ztschr., **143**, 342, 1923), CORLEY und DENIS (Proc. the Soc. f. exp. biol. a. med., **23**, 158, 1925) empfehlen, die Organe für die Mikrobestimmung des Calciums durch die fünffache Menge n/10 Natronlauge aufzuschließen*). PINCUSSEN und CRONHEIM (l. c.) geben der feuchten Veraschung auch bei der Organanalyse den Vorzug, ebenso TSCHOPP (Biochem. Ztschr., **203**, 267, 1928), der einen eigens hierzu konstruierten Apparat verwendet. Auch Kot wird für die Calciumbestimmung trocken (TISSDALL, KRAMER, Journ. biol. Chem., **48**, 1, 1921) oder feucht (PINCUSSEN, vgl. „Mikromethodik") verascht. Für die Mikrobestimmung von Calcium im Knochen werden diese nach KRAMER und HOW-

*) Auch für die Calciumbestimmung in Milch empfohlen.

LAND (Journ. biol. Chem., **68**, 711, 1926) zunächst mit Alkohol und Äther extrahiert, dann gepulvert und mit 5 n-Salzsäure behandelt. Die filtrierte Lösung wird in aliquoten Teilen, ähnlich wie bei der Calciumbestimmung im Blute beschrieben, mit Ammoniak und Ammonoxalat gefällt.

Ein Teil des Blutcalciums wird bei der Blutgerinnung, für deren Zustandekommen bekanntlich Kalksalze notwendig sind, mit in das Koagulum niedergerissen. Die Bestimmungen des Calciums im Blutserum können daher nicht genau dem in der ursprünglichen Blutflüssigkeit vorhandenen Calciumgehalt entsprechen. Die Differenz kann allerdings nur gering sein[3]), immerhin sind zur Bestimmung des Calciums im ungeronnenen Blut spezielle Methoden ausgearbeitet worden. Die Methode von ROTHWELL (Journ. biol. Chem., **74**, 257, 1927) beruht darauf, daß durch den Zusatz von Ammonoxalat die Calciumsalze ausgefällt und dadurch gleichzeitig die Gerinnung verhindert wird. Das durch Schütteln in der Flüssigkeit gleichmäßig suspendierte Calciumoxalat wird nunmehr durch Zusatz von Trichloressigsäure, welche die Eiweißkörper gleichzeitig ausfällt, in Lösung gebracht, vom Eiweißniederschlag abfiltriert, das Calcium durch Neutralisierung und neuerlichem Oxalatzusatz in gewohnter Weise zur Fällung gebracht und nach der Permanganatmethode bestimmt. — In kleinen Mengen Vollblut bestimmt ALPORT (Biochem. Journ., **18**, 455, 1924) den Calciumgehalt durch Ungerinnbarmachen mit Ammonoxalat und Veraschen der auf diese Weise erhaltenen Suspension. Auch nach dem Verfahren von CAVEN und CANTAROW (Journ. labor. clin. a. med., **12**, 76, 1926) erhält man den Calciumgehalt des Vollblutes, der durch die Beimengung der calciumfreien Blutkörperchen (KRAMER und TISSDALL, Journ. biolog. Chem., **53**, 241, 1922) niedriger liegt als der Calciumgehalt des Serums. HIRTH (Compt. rend. soc. biol., **88**, 458, 1923) verhindert daher die Gerinnung durch Einfließenlassen in paraffinierte Gefäße und bestimmt das Calcium in dem auf diese Weise erhaltenen Plasma.

Da Citrate freie Calciumionen durch Bildung von Komplexsalzen binden, wird die Blutgerinnung auch durch Zusatz von Citraten verhindert. Mit Rücksicht auf die zahlreichen Calcium-

[3]) Nach CZAPÓ und FAUBL (Biochem. Ztschr., **150**, 511, 1924) höchstens 0,03 bis 0,04 mg%.

bestimmungen im Citratplasma wurde der Einfluß von Ammoncitrat auf die Calciumoxalatfällung von JAKÒB untersucht. Unter Einhaltung bestimmter Kautelen (Oxalatüberschuß) stört die Anwesenheit von Citraten nicht (Roczniki Chemji, **3**, 308, 1923), kann unter Umständen die Reinheit der Fällung sogar fördern. (Vgl. auch JAKÒB, Roczniki Chemji, **5**, 159, 1925.)

β) Die Bestimmung des Calciumoxalats.

A. Gravimetrische Methoden.

a) Wägung als Oxyd oder Sulfat. In der Makroanalyse, eine der am häufigsten verwendeten Methoden, hat das Verglühen des aus der Lösung des Calciumsalzes gefällten Oxalats zu Oxyd für die Mikroanalyse bisher wenig Bedeutung. Die wenigen Autoren, die das Oxalat zur Mikrobestimmung in Oxyd überführen (JANSEN, HAMILTON) geben der titrimetrischen Bestimmung des Oxyds den Vorzug. Auch die Wägung als Sulfat durch Abrauchen des Oxalats mit Schwefelsäure hat in der Mikroanalyse bisher noch wenig Verwendung gefunden. Vergleichende Untersuchungen über die Genauigkeit der gravimetrischen Bestimmung des als Oxalat gefällten Calciums als Oxyd, Sulfat oder Oxalat haben in letzter Zeit FRANKE und DWORZAK (Ztschr. analyt. Chem., **72**, 129, 1927) mitgeteilt. Die gravimetrische Bestimmung kleiner Mengen Calcium nach Fällung als Calciumoxalat kann auch in Sedimentierröhrchen erfolgen. (GARTNER, Monatshefte für Chemie, **41**, 494, 1920.)

b) Durch Wägung als Carbonat. Um die Nachteile, die die gravimetrische Bestimmung des CaO durch die Absorption von Kohlensäure und Wasser hat, zu vermeiden, ist in den letzten Jahren an Stelle der Wägung des Oxyds die Wägung des Calciums als Carbonat vorgeschlagen worden. Die verhältnismäßig niedrige Temperatur beim Glühen macht die Verwendung von Papierfiltern, die dann verascht werden müßten, unnötig. FOOTE und BRADLEY (Journ. Amer. chem. Soc., **48**, 676, 1926) erhitzen das Oxalat zwischen 675 und 800° im trockenen Kohlensäurestrom. Wie auch DE GROOT (Chem. Weekbl., **23**, 456, 1927) bestätigt, sind die Resultate der Bestimmung als Carbonat sehr befriedigend. Nach WILLARD und BOLDYREFF (Journ. Amer. chem. Soc., **52**, 1888,

1930) genügt es, zur vollständigen Umwandlung 2 Stunden im Luftstrom auf 450 bis 500° zu erhitzen. — Die Umwandlung kleiner Mengen Calciumoxalat erfolgt sogar schon nach kurzem Erhitzen des abzentrifugierten Niederschlages im Zentrifugenglas in der freien Flamme des Bunsenbrenners. (Trevan und Bainbridge, Biochem. Journ., **20**, 422, 1926.) Die Bedingungen quantitativer Umwandlung kleiner Mengen vgl. bei Patterson (Biochem. Journ., **24**, 355, 1930). Für die gravimetrische Mikrobestimmung erhitzt Häusler das Oxalat im Heräusofen bis zur beginnenden Rotglut, raucht mit Ammoncarbonat wiederholt ab und wägt als Carbonat. (Ztschr. analyt. Chem., **64**, 371, 1924.) Vgl. auch Moles und Villamil (Anales Soc. Espanol. Fis. Quim., **22**, 174, 1924).

c) Durch Wägung als Oxalat, die neuerdings auch von Dick (Ztschr. analyt. Chem., **77**, 359, 1929) propagiert worden ist, hat vor den beiden vorgenannten Methoden zunächst den Vorteil des größeren Molekulargewichts. Außerdem ist das Sammeln im Filterröhrchen rasch durchführbar, das Trocknen bei 105° kann durch vorheriges Auswaschen mit Alkoholäther sehr beschleunigt werden. Besonders vorteilhaft für die gravimetrische Bestimmung kleiner Mengen Calcium ist die Filtration im Emichschen Filterstäbchen. Vgl. hierüber Häusler (Ztschr. analyt. Chem., **64**, 371, 1924). Strebinger fällt mit Ammonoxalat aus schwach essigsaurer Lösung (wegen vorhergehender Ausfällung des Bariums als Chromat) bei 50°, sammelt nach zweistündigem Stehen im Preglschen Filterröhrchen, wäscht mit essigsäurehaltigem Wasser, trocknet bei 110° und wägt als $Ca(COO)_2$, H_2O. (Mikrochemie, **7**, 100, 1929.) Einige Modifikationen dieses Vorgehens finden sich bei Strebinger und Reif (Mikrochemie, Pregl-Festschrift, 319, 1929). (Waschen mit kaltem Wasser und Alkohol, Trocknen bei 105° im Trockenblock.) Nach Beleganalysen können auf diese Weise noch 0,2 mg Calcium mit einer Genauigkeit von zirka 2% bestimmt werden.

B. Titrimetrische Methoden.

1. Mit Kaliumpermanganat.

Die Bestimmung wird entweder so vorgenommen, daß das gefällte Calciumoxalat gewaschen, in Säure gelöst und mit Kalium-

permanganat titriert wird (a) oder aber so, daß zur Fällung des Calciums eine gemessene Menge gestellter Oxalsäurelösung hinzugefügt, der Niederschlag durch Zentrifugieren oder Filtration von der überstehenden Lösung abgetrennt und der unverbrauchte Rest der Oxalsäure durch Titration bestimmt wird (b).

a) Direkte Titration des gewaschenen und in Säure gelösten Calciumoxalats.

Schon im Jahre 1892[4]) hat KRÜGER (Ztschr. physiol. Chem., **16**, 445, 1892) kleine Mengen Calcium (bis 0,4 mg Ca) auf diese Weise bestimmt. Das Verfahren, das durch HALVERSON und BERGEIM (Journ. biolog. Chem., **24**, 22, 1916, ibidem, **32**, 159, 1917) später etwas modifiziert worden war, wurde im Jahre 1919 durch die etwas umständlichen Verfahren von DIENES (Biochem. Ztschr., **95**, 131, 1919) und namentlich durch die von DE WAARD (Biochem. Ztsch., **97**, 176, 1919) angegebenen Verbesserungen so weit ausgebaut, daß es möglich wurde, 0,1 mg Calcium (also den Calciumgehalt von zirka 1 ccm Blut) mit genügender Genauigkeit und auf eine relativ sehr einfache Weise zu bestimmen. Seither ist die Methode von zahlreichen Untersuchern immer wieder nachgeprüft und in Einzelheiten modifiziert worden und gehört heute zu den am häufigsten verwendeten Methoden der gesamten experimentellen Medizin.

Nach dem Vorgang von DE WAARD wird die salzsaure Lösung, die außer Magnesium und den Alkalimetallen auch Eisen und Phosphate enthalten darf, in einem zugespitzten Zentrifugierröhrchen in der Hitze mit gesättigter Ammonoxalatlösung versetzt, dann wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit Essigsäure angesäuert. Das Calciumoxalat wird abzentrifugiert, mit Wasser gewaschen, in nitritfreier verdünnter Salpetersäure in der Wärme gelöst und mit n/100 Permanganatlösung aus einer Mikrobürette titriert.

Für die Mikrobestimmung von Calcium in Filtraten der Chromatfällung des Bariums ist die direkte Permanganattitration auch von GEILMANN und HÖLTJE (Ztschr. anorg. Chem., **167**, 128, 1927) modifiziert worden. (Verwendete Ca-Menge weniger als 5 mg,

[4]) Eine der ersten Methoden der quantitativen Mikroanalyse.

Genauigkeit 0,015 mg.) Weitere Modifikationen vgl. bei Ling und Bushill (Biochem. Journ., **16**, 403, 1922), und (besonders häufig verwendet) die Modifikation von Kramer und Tissdall (Journ. biolog. Chem., **47**, 475, 1921), ferner Cristol (Bull. Scienc. Pharmakol., **29**, 79, 1922), Mazzocco (Compt. rend. Soc. biol., **85**, 589, 1921), Kummer und Minkoff (Compt. rend. seanc. soc. biolog., **85**, 863, 1921), Grigaut und Ornstein (Compt. rend. seanc. soc. biolog., 104, 747, 1930).

Die Abtrennung des Niederschlags von der Lösung muß nicht durch Abzentrifugieren erfolgen. Kirk und Schmidt (Journ. biolog. Chem., **83**, 311, 1929) schlagen vor, das wie üblich gefällte Calciumoxalat durch ein von ihnen angegebenes, mit Asbest gefülltes Filterröhrchen mit einer Einlage aus durchlochter Platinfolie abzufiltrieren. Nach dem Waschen wird der Niederschlag in einem Kubikzentimeter 2n-Schwefelsäure, der dreimal immer wieder auf das Filter gebracht wird, gelöst und dieser Vorgang mit einem zweiten Kubikzentimeter Schwefelsäure nochmals wiederholt. Die so erhaltene Lösung wird in das Fällungsgefäß zurückgebracht und mit Permanganat in der üblichen Weise titriert.

Die Titration muß in der Hitze am besten bei 75° erfolgen. Um die Einhaltung dieser Temperatur bei der Aufarbeitung großer Versuchsserien zu erleichtern, hat Watson (Journ. labor. clin. and med., **13**, 670, 1928) eigens für diesen Zweck einen Apparat mit konstanter Temperatureinstellung und gleichzeitiger Rührung angegeben[5]).

Wichtig erscheint, daß der für ein Mikroverfahren tatsächlich etwas unscharfe Umschlag der Titration mit n/100 oder n/200 Lösungen von Kaliumpermanganat sehr verbessert werden kann, wenn man, wie dies von Alport (Biochem. Journ., **18**, 455, 1924), später auch von Melli (Policlinico, **34**, 510, 1927) vorgeschlagen worden ist, das Calciumoxalat in Schwefelsäure löst und dann von vornherein mit einem kleinen Überschuß Kaliumpermanganat oxydiert. Der nach der Oxydation verbleibende Rest des Kaliumpermanganats wird dann nach Zusatz von Jodkalium mit n/100 Thiosulfatlösung zurücktitriert. (Vgl. die neuere Modifikation von

[5]) Ähnlich auch das sogenannte „Hämocalcimeter" von Weiss (Deutsch. med. Wochenschr., **47**, 1298, 1921, ferner ibid., **49**, 855, 1923), das für die de Waard-sche Methode bestimmt ist.

Vellux und Deschaseaux , Compt. rend. Soc. Biol., **104**, 976, 977, 1930.)

Unter Berücksichtigung dieser Modifikationen ist es möglich, die Menge der zur Analyse benötigten Substanz ganz erheblich herabzusetzen. Nach Groák (Biochem. Ztschr., **212**, 47, 1930) kann man auf diese Weise Calciummengen von zirka 0,01 mg mit einer Genauigkeit 2,5% bestimmen. Ausgangsmaterial 0,1 cc Blut, Fällung mit Ammoniumoxalat wie üblich, Waschen mit 2% NH_3 in der Zentrifuge, Lösen des Niederschlages in 0,1 ccm 20%iger Schwefelsäure, Zusatz von 1 ccm n 500 Kaliumpermanganat in der Hitze. Nach dem Abkühlen Zusatz von Jodkali und Stärke, Titration mit n 1000 Thiosulfat.

Vergleichende Untersuchungen über die Genauigkeit der verschiedenen Permanganatmethoden zur Mikrocalciumbestimmung sowie der auf Seite 495 angeführten acidimetrischen Methoden sind unter anderem von Hendriks (Biochem. Journ., **23**, 1206, 1929), Bär (Endocrinologie, 1, 90, 1928) u. a. durchgeführt worden.

Über die Selbstzersetzung der Kaliumpermanganatlösung in der Hitze und in Gegenwart von Säuren vgl. Kolthoff und Menzel (Die Maßanalyse, **II**, 268, Berlin 1928). Ernst und Horwath (Biochem. Ztschr., **224**, 135, 1930) teilen für diesen Fehler Korrekturwerte mit. Bei gleichmäßigem Vorgehen ist nach Ernst und Horwath die Selbstreduktion dem Permanganatverbrauch der Titration proportional. Vellux und Deschaseaux (l. c.) oxydieren das Calciumoxalat, um die Selbstreduktion der $KMnO_4$-Lösung zu vermeiden, in der Kälte. Auch die verwendete Schwefelsäure muß bei Mikrobestimmungen auf die Anwesenheit reduzierender Substanzen geprüft werden.

Die Titration mit Kaliumpermanganat kann auch in Gegenwart von Magnesiumsalzen erfolgen. Bekannt ist das Verfahren zur Bestimmung von Calcium und Magnesium in einer und derselben Lösung (Fox, Journ. Ind. and Engin. Chem., **5**, 910, 1913) durch Fällung des Calciums als Calciumoxalat und des Magnesiums als Magnesium-Ammoniumarsenat, Filtration des gemeinsamen Niederschlages, Lösung in Schwefelsäure und Titration erst der Oxalsäure mit Kaliumpermanganat, dann der Arsensäure nach Zusatz von Jodkali mit Natriumthiosulfat. Die Methode von Fox ist neuerdings von Schollen-

BERGER (Chemist-Analyst, **16**, 6, 1927) nachgeprüft und namentlich für die Wasseranalyse (und ähnliche Zwecke) empfohlen worden. Für die Bestimmung kleiner Mengen ist ein ähnliches Verfahren von MALJAROW (Journ. Russ. phys. chem. Ges., **62**, 1529, 1930) ausgearbeitet worden, bei dem die Bestimmung des Calciums in gleicher Weise, die Bestimmung des Magnesiums aber durch Fällung als Hydroxyd und acidimetrische Titration erfolgt. Abwesenheit von Ammonsalzen ist erforderlich. Arbeitszeit 2 Stunden.

b) Die Bestimmung des bei der Calciumoxalatfällung nicht verbrauchten Oxalatüberschusses durch Titration mit Kaliumpermanganat hat den Vorteil, daß das bedenkliche Auswaschen des Niederschlages vermieden wird. Dafür ist die Methode mit dem Fehlerinkrement aller indirekten Methoden behaftet, indem eine kleine Menge Oxalat durch Subtraktion zweier größerer Oxalatmengen errechnet wird, wodurch die Bestimmungsfehler der Titration bei der Umrechnung eine entsprechende Erhöhung erfahren. (Über das Fehlerinkrement vgl. STARY, Mikrochemie, 7, 200, 1930.)

Die Methode der Rücktitration des Permanganats ist in letzter Zeit von HAHN und WEILER (Ztschr. analyt. Chem., **70**, 1, 1927) genau studiert worden. (Vgl. auch VÜRTHEIM und VAN BIRS, Chem. Weekbl., **19**, 450, 1922.) Als Mikroverfahren wird ein derartiges Vorgehen von GEILMANN und HÖLTJE (Ztschr. anorg. Chem., **167**, 128, 1927) beschrieben. Eine weitere Mikromethode nach demselben Prinzip haben auch KRAMER und HOWLAND (Journ. biolog. Chem., **43**, 35, 1920) angegeben.

2. Andere Oxydationsmethoden. Jodometrische Bestimmung.

Für die titrimetrische Bestimmung des Calciumoxalats ist in den letzten Jahren die Verwendung von Cerisulfatlösung an Stelle von Kaliumpermanganatlösungen vorgeschlagen worden (WILLARD und YOUNG, Journ. Amer. chem. Soc., **50**, 1322, 1928). Der Endpunkt der Titration kann entweder durch den Umschlag in Gelb oder aber elektrometrisch (Ag-Pt-Elektroden) ermittelt

werden. Über die Bereitung der Lösungen vgl. Willard und Young (Journ. Amer. chem. Soc., **51**, 149, 1929).

Eine andere Methode beruht auf der Oxydation des gefällten und mit Alkohol gewaschenen Niederschlages durch Kaliumjodat. Melli (Policlinico, **34**, 510, 1927) empfiehlt, das Calciumoxalat im Autoclaven unter 2 Atmosphären Druck mit einer gemessenen Menge n/200 Kaliumjodatlösung durch 1 bis 2 Stunden zu erhitzen. Nach dem Auskühlen wird Jodkalium und Stärkelösung hinzugegeben und mit n/200 Thiosulfatlösung oder n/200 Arseniksäurelösung titriert. Nach Angabe des Autors können auf diese Weise quantitative Bestimmungen noch mit 0,3 mg Ca durchgeführt werden.

3. Acidimetrische Titration.

a) Als Oxyd. Durch Erhitzen kann der von der Flüssigkeit abgetrennte Calciumoxalatniederschlag in Calciumcarbonat und schließlich in Calciumoxyd übergeführt werden; Calciumoxyd, bezw. Calciumcarbonat können sodann mit einer gemessenen Menge gestellter Säure gelöst und der Säureverbrauch durch Rücktitrieren bestimmt werden. Ein großer Vorteil dieser Methode liegt darin, daß zur Waschung des Calciumoxalats Ammonoxalatlösungen verwendet werden können, da das überschüssige Ammonoxalat beim Erhitzen in Ammoncarbonat übergeht und verdampft.

Ein auf diesem Prinzip aufgebautes Mikroverfahren ist von Jansen (Ztschr. physiol. Chem., **101**, 176, 1918) angegeben worden. Nach der in üblicher Weise durchgeführten Fällung filtriert Jansen den Niederschlag durch ein aschefreies Filter, wäscht mit ammonoxalathaltigem Wasser nach, verbrennt im Platintiegel und glüht vor dem Gebläse. Dann wird in ein Becherglas übergeführt, in n/100 Salzsäure gelöst und der Säurerest zurücktitriert. Natürlich kann die Titration des Säureüberschusses auch auf jodometrischem Wege erfolgen: Der nach Lösen des CaO verbleibende Säureüberschuß setzt bei Zusatz einer Jodid-Jodat-Lösung eine äquivalente Jodmenge frei, die durch Titration mit Thiosulfatlösung bestimmt werden kann.

Die Methode ist von Rona und Heubner für die Untersuchung des Kalkgehalts kleiner Versuchstiere verwendet worden. (Biochem. Ztschr., **93**, 353, 1919.) Nach dem gleichen Prinzip arbeitet auch

das Mikroverfahren von HIRTH (Compt. rend. de la soc. biol., **88**, 458, 1923).

Neuerdings hat auch HAMILTON (Journ. biolog. Chem., **65**, 101, 1925), einer Anregung von FISKE folgend, einen ähnlichen Weg eingeschlagen, indem er das nach KRAMER und TISSDALL gefällte Calciumoxalat in einen Platintiegel überführt, auf dem Wasserbad trocknet und glüht. Das CaO wird in einem Kubikzentimeter einer 0,015 n-Salzsäure gelöst und der Säureüberschuß mit n/100 NaOH mit Methylrot als Indikator zurücktitriert. Zur rascheren Umwandlung des Calciumoxalats in Calciumoxyd glühen CERNATESCO und VASCAUTAN (Ann. Scient. Univ. Jassy, **14**, 305, 1926) im Sauerstoffstrom.

b) Als Carbonat. Die acidimetrische Titration des Calciumoxalats nach Umwandlung in Calciumcarbonat ist von TREVAN und BAINBRIDGE (Biochem. Journ., **20**, 423, 1926) für mikroanalytische Zwecke ausgebaut worden. Das Calciumoxalat wird in einem Zentrifugengläschen zur Fällung gebracht und abzentrifugiert. Durch wiederholtes Zentrifugieren mit Ammonoxalatlösung wird der im konischen Teile des Gläschens zusammengeballte Niederschlag gewaschen. Hierauf wird das Röhrchen in der freien Flamme des Bunsenbrenners vorsichtig erhitzt. Aus dem überschüssigen Ammonoxalat entsteht Ammoncarbonat, das sich verflüchtigt. Das aus dem Calciumoxalat entstehende Calciumcarbonat wird nach dem Auskühlen in n/100-HCl gelöst und mit n/100-NaOH (Bromphenolblau als Indikator) titriert. Die Genauigkeit der Methode ist in dem schärferen Umschlagspunkt der acidimetrischen Titration und in der Unlöslichkeit des Calciumoxalats in gesättigter Ammonoxalatlösung begründet, die ein vollständiges Auswaschen des Niederschlags gestattet. Die Methode ist später von HENDRIKS (Biochem. Journ., **23**, 1206, 1929) nachgeprüft und in Einzelheiten (langsamer Zusatz des Ammonoxalats u. a.) geändert worden. Neuerdings sind einige Änderungen, namentlich das Erhitzen betreffend, von PATTERSON (Biochem. Journ., **24**, 355, 1930) vorgeschlagen worden. LEBERMANN (Münch. med. Wochenschr., **71**, 1392, 1924) bewirkt die Umwandlung sehr geringer Calciummengen im Heizschrank bei 250°. Der Autor benützt die Methode für die Bestimmung extrem geringer Calciummengen (0,01 mg Calcium entsprechend zirka 0,1 cc Blutserum). Ferner

wurde die acidimetrische Titration des Calciumoxalats auch für die Untersuchung der Asche von Lebensmitteln empfohlen (vgl. Pfyl und Samter, Ztschr. Unters. Nahr.- u. Genußmittel, **46**, 241, 1924).

C. Gasanalytisch.

Bei der Oxydation des Calciumoxalats mit Kaliumpermanganat werden auf je ein Äquivalent Calcium zwei Äquivalente Kohlensäure frei, die auf gasanalytischem Wege bestimmt werden können. Bei einem Gasvolumen von 0,5 cc gibt eine Calciumoxalatmenge entsprechend 0,1 mg Calcium bereits eine Drucksteigerung um 160 mm (im Manometer von van Slyke und Neill abgelesen).

Eine gasanalytische Mikromethode der Calciumbestimmungen ist auf diesem Prinzip von van Slyke und Sendroy (Proc. the Soc. f. exp. biol. and med., **24**, 167, 1926, ferner Journ. physiol. Chem., **84**, 217, 1929) aufgebaut worden.

Die saure Calciumlösung — Serum, Blutplasma oder biologische Flüssigkeiten werden vorher mit 20%iger Trichloressigsäure enteiweißt — wird nach Zusatz von 1 ccm 20%iger Natriumacetatlösung und 1 ccm gesättigter Ammonoxalatlösung mit einigen Tropfen Ammoniak auf pH 5 gebracht (Vergleichslösung mit Phosphatpuffern, Bromkresolgrün als Indikator). Am nächsten Tage wird zentrifugiert, wie üblich mit Ammoniak gewaschen, in der Hitze in Schwefelsäure gelöst und unter Nachwaschen mit Wasser in den Gasanalysenapparat nach van Slyke und Neill (Journ. biol. Chem., **61**, 523, 1924) eingebracht. Gelöste Gase werden durch Evakuieren und Schütteln entfernt, dann 1 ccm 0,15 n-Kaliumpermanganatlösung hinzugegeben und 3 Minuten geschüttelt. Das entwickelte Gas wird auf ein Volumen von 0,5 ccm gebracht und der Gasdruck gemessen. Hierauf wird durch Zusatz von 1 ccm NaOH die Kohlensäure absorbiert und der Druck neuerlich gemessen. — In einer größeren Serie von Bestimmungen ist die Methode von Kuttner und Cohen (Journ. biol. Chem., **75**, 529, 1927) nachgeprüft worden, die Übereinstimmung mit den anderen Mikromethoden ist gut.

D. Kolorimetrische Methoden.

Eine kolorimetrische Bestimmung kleiner Mengen Calciumoxalat kann auf der Tatsache aufgebaut werden, daß oxalsaure Salze

(ebenso wie die Phosphate, vgl. das oben beim Magnesium Gesagte, S. 469) die Rhodaneisenreaktion zu entfärben vermögen. Der Vorgang der Kolorimetrie erfolgt hierbei nach MARRIOTT und HOWLAND (Journ. biol. Chem., **32**, 233, 1917) so, daß man einer Reihe von Proben derselben Rhodaneisenlösung steigende Mengen Oxalat hinzusetzt, eine weitere Probe derselben Rhodaneisenlösung aber mit dem in Salzsäure gelösten Calciumoxalatniederschlag versetzt. Aus der Standardreihe wählt man, wie oben bei der kolorimetrischen Magnesiumbestimmung beschrieben, die analog gefärbte Probe aus, bezw. interpoliert durch neue Proben derselben Art. Die Autoren selbst erhalten im Durchschnitt eine Genauigkeit von 2%, doch kommen gelegentlich erheblich größere Fehler vor. Die Methode gibt nach DE TONI (Arch. farm. sper., **34**, 124, 1922), ferner LABÉ und DE TONI (Journ. pharm. et chim., **24**, 247, 1921) fehlerhafte Resultate.

Eine andere kolorimetrische Methode ist von LAIDLAW und PAYNE ausgearbeitet worden (Biochem Journ., **16**, 494, 1922). Das Calciumoxalat, das in der bekannten Weise gefällt worden ist, wird in einer kleinen Menge Salzsäure gelöst. Man versetzt sodann mit je 1 cc einer 0,1%igen alkoholischen Alizarinlösung für je 0,1 mg erwartetes Calcium, fügt NH_3 im Überschuß zu und läßt eine Stunde auf dem Wasserbad und weitere 12 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen. Das Calciumalizarinat fällt in blauen Nadeln aus, die über Asbest im Goochtiegel unter schwachem Druck abgesaugt werden. Das von der Lösung abgetrennte Calciumalizarinat wird mit gesättigter, mit 50%igem Alkohol hergestellter Oxalsäurelösung zerlegt, auf 50 ccm aufgefüllt und kolorimetriert. Andere kolorimetrische Methoden, bei denen die Fällung als Oxalat der Kolorimetrie nicht vorangehen muß, werden weiter unten referiert. (Vgl. S. 500, 503—505.)

E. Nephelometrische Methoden.

Die nephelometrische Bestimmung des Calciumoxalats wurde schon 1903 von MUGUET (Journ. fabr. Sucre, 37, 1) vorgeschlagen, wurde aber erst nach Ausbau der Nephelometrie zu einer exakten Mikromethode entwickelt. Sie kann entweder direkt oder nach Umwandlung in andere unlösliche Calciumsalze erfolgen. Der erstere

Weg wurde von Chéneveau und Boussu (Compt. rend. Acad. Sciences, **177**, 1926, 1923) eingeschlagen; eine analoge Methode, speziell für die Calciumbestimmung im Blute bestimmt, stammt ferner von Sharpe (Edinburgh med. Journ., **33**, 27, 1926). Sharpe geht in folgender Weise vor: 5 ccm mit Trichloressigsäure enteiweißten Blutfiltrats werden mit Ammoniak alkalisch gemacht, mit Essigsäure hierauf angesäuert, dann werden einige Kristalle Ammonoxalat hinzugegeben, einige Minuten bis zum Sieden erhitzt, nach dem Abkühlen 1 ccm Glycerin hinzugefügt und mit der analog behandelten Standardlösung auf ein gleiches Volumen gebracht und nephelometriert.

Lyman zieht es dagegen vor, das Calciumoxalat in Salzsäure zu lösen und als Calciumricinat, bezw. Calciumstearat zu nephelometrieren. (Vgl. hierüber die Fällung des Calciums als fettsaures Salz, S. 502. Auch über die nephelometrische Bestimmung des Calciums als Ferrocyanid vgl. das weiter unten Gesagte, S. 503.)

F. Radiometrische Bestimmung.

Radioaktive Elemente werden in äußerster Verdünnung von einem ausfallenden Niederschlag dann mitgefällt, wenn sie in größerer Konzentration mit dem Anion des Niederschlages ein schwerlösliches Salz bilden würden. Die auf diese Weise aus der Lösung niedergeschlagenen Mengen des radioaktiven Elements sind unter bestimmten Bedingungen der Menge des Niederschlages proportional und die Abnahme der Radioaktivität der Lösung kann daher unter bestimmten Kautelen zur Bestimmung sehr geringer Niederschlagsmengen verwendet werden. Das Verfahren wurde als mikroanalytische Methode von Ehrenberg in zahlreichen Untersuchungen (unter anderem auch in dieser Zeitschrift) beschrieben. Die Bestimmung des Calciums als Oxalat kann auf diese Weise, unter Verwendung von Thorium B als radioaktivem „Indikator", erfolgen. Die zur Bestimmung notwendigen Calciummengen sind außerordentlich gering. Die verwendete Calciummenge liegt zwischen 0,004 und 0,013 mg Calcium, das Optimum der Bestimmung zwischen 0,007 und 0,013 mg. Die Methode unterbietet also, was Materialbedarf anbelangt, die empfindlichsten kolorimetrischen, nephelometrischen oder titrimetrischen Methoden noch um die

Hälfte. Näheres vgl. EHRENBERG, Biochem. Ztschr., **164**, 183, 1925; **172**, 10, 1926; **183**, 63, 68, 1927; **197**, 467, 1928; Ztschr. f. d. ges. exp. Med., **56**, 466, 1927; PREGL-Festschrift, Mikrochemie, 1929, S. 63.

G. Andere Methoden zur Bestimmung des Calciumoxalats.

Die als Makroverfahren gut studierte thermometrische Bestimmung des Calciums als Oxalat scheint für die Mikroanalyse keine Vorteile zu bieten, auch elektrometrische Mikromethoden liegen für die Calciumoxalatbestimmung unseres Wissens bisher nicht vor. Die von HAMBURGER benützte sedimetrische Methode der Calciumbestimmung als Oxalat mit Hilfe der Messung der Niederschlagshöhe von zu Kapillarröhrchen verengten und mit bekannten Calciumoxalatmengen geeichten Zentrifugiergläschen (Hämatokriten) ist in der alten Form durch die neueren titrimetrischen Mikromethoden schon überholt (HAMBURGER, Ztschr. physikal. Chem., **69**, 972, 1909). Genaue Studien über Bedingungen einer sedimetrischen Bestimmung des Calciums als Oxalat haben ARRHENIUS und RIEHM (Medd. Kgl. Wetenskapsakad. Nobelinst., **6**, 69, 1926) ausgeführt.

IV. Fällung des Calciums als Sulfat.

Bekanntlich kann in der Makroanalyse die Trennung von Calcium und Magnesium durch Überführen des Gemisches in Sulfate und Lösen des Magnesiumsulfats durch alkoholische Extraktionslösungen erfolgen, und die Frage, ob die Oxalat- oder die Sulfatmethode zur Trennung kleiner Mengen Calcium von viel Magnesium besser geeignet sei, hat in den letzten Jahren einige Diskussion hervorgerufen. (Vgl. RODT und KINDSCHER, Chem.-Ztg., **48**, 953, 1924, ibid. **48**, 964, 1924, ibid. **49**, 581, 1925, HEILINGÖTTER, Chem.-Ztg., **49**, 241, 1925, BACH, Chem.-Ztg., **49**, 514, 1925, **49**, 581, 1925.[6])

[6]) Vgl. auch die älteren Untersuchungen von STOLBERG (Ztschr. angew. Chem., **17**, 741); MURMANN (Ztschr. analyt. Chem., **49**, 697, 1910; KALLAUNER und PRELLER (Chem. Ztg., **36**, 449, 1912); ferner auch SINGLETON (Industr. Chemist a. chem. Manufact., **5**, 71, 1929).

In die Mikroanalyse ist die Sulfatmethode der Calciumbestimmung von ROGOZINSKI eingeführt worden. Nach seinem Verfahren werden 2 ccm der Lösung des Calciumsalzes mit 1 ccm Schwefelsäure (Dichte 1,35) und 12 ccm Alkohol (96%ig) versetzt, nach 12 bis 24 Stunden durch ein PREGL'sches Filterröhrchen abfiltriert, dreimal mit 70%igem Alkohol gewaschen, im Luftstrom bei 100° getrocknet (Trockenblock) und nach 15 Minuten als $CaSO_4$, $2H_2O$ gewogen (ROGOZINSKI, Bull. Soc. chim. France, [4], **43**, 464, 1928).

V. Fällung des Calciums als Phosphat.

Die Fällung des Calciums als Phosphat hat für die Mikroanalyse in letzter Zeit dadurch Bedeutung erlangt, daß es möglich wurde, Phosphorsäure und Phosphate in kleinen Mengen rasch und relativ genau kolorimetrisch zu bestimmen. Geringe Mengen Magnesium stören nach Angabe von ROE und KAHN (Journ. biol. Chem., **67**, 585, 1926) bei der Phosphatfällung des Calciums nicht, wenn von vornherein ein größerer Alkaliüberschuß zugegeben wird, da dann das Magnesium als Hydroxyd und nicht als Phosphat ausfällt und daher bei der Reduktion der Phosphate ohne Einfluß auf die Farbreaktion bleibt. Lösungen mit 30 mg Mg auf 10 mg Ca geben noch gute Resultate[7]).

Die Fällung des Calciums als Phosphat kann man daher auch im Blut und anderen biologischen Flüssigkeiten durchführen, diese sollen jedoch vorher enteiweißt werden (Trichloressigsäurefällung).

Die Mikrobestimmung des Calciums als Phosphat erfolgt in der Weise, daß die Calciumlösung im Zentrifugenglas zunächst mit calciumfreier Natronlauge und nach Ablauf einiger Minuten mit Natriumphosphatlösung versetzt wird. Nach Durchmischung und einstündigem Stehen wird kurz zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit sorgfältig abgegossen und in der Zentrifuge mit 50%igem natronalkalischen Alkohol, der etwas Amylalkohol enthält, sorgfältig gewaschen. Durch Zusatz einer Lösung von Ammonmolybdat in Schwefelsäure wird das gereinigte Calcium-

[7]) Die bei der Bestimmung des Calciums als Phosphat auftretenden Schwierigkeiten sowie die Bedingungen einer quantitativen Fällung sind in letzter Zeit von TRAVERS und PERRON (Anal. de Chim. [10], **2**, 43, 1924, ferner auch ibid. [10], **1**, 135, 1923) einer genauen Überprüfung unterzogen worden.

phosphat sodann gelöst und eine äquivalente Menge Phosphormolybdänsäure gebildet. (Roe und Kahn.)

Die auf Zusatz bestimmter Reduktionsmittel eintretende Blaufärbung ist ein Maß für die Menge der vorhandenen Phosphormolybdänsäure und also auch für die Menge des gefällten Calciumphosphats. Die verschiedenen, zu diesem Zwecke empfohlenen Verfahren differieren im wesentlichen nur in der Auswahl des Reduktionsmittels.

Entscheidend für die Brauchbarkeit der Methode ist die Auswahl eines rasch und konstant wirkenden Reduktionsmittels, das auf überschüssige Molybdänsäure selbst wirkungslos sein muß. Für Calciummikromethoden[8]) sind in den letzten Jahren empfohlen worden:

1. Die Hydrochinon-Bisulfitmischung nach Benedikt und Theis (Journ. biol. Chem., **61**, 63, 1926). Die Lösung ist haltbar, reduziert aber verhältnismäßig langsam. Für die Calciumphosphatbestimmung empfohlen von Roe und Kahn (Journ. biol. Chem., **67**, 585, 1926, ferner Journ. biol. Chem., **81**, 1, 1929). Die Reduktion erfolgt in der Wärme.

2. Die 1, 2, 4-Aminonaphtholsulfosäure, für die Phosphorbestimmung zuerst angegeben von Fiske und Subbarow (Journ. biol. Chem., **66**, 375, 1925). Nach Roe (Journ. biol. Chem., 78, Proceedings of Americ. Soc. of biol. Chem., **22**, 48, 1928) dem vorgenannten Hydrochinon-Bisulfitreagens für die Calciumbestimmung vorzuziehen. Es ist weniger haltbar als das erstere, reduziert aber bereits in der Kälte, eignet sich daher namentlich für die Durchführung größerer Versuchsserien.

3. Stannochloridlösung. Sie wurde schon von Denigès (Compt. rend. Soc. biol., **84**, 875, 1921) für kolorimetrische Phosphorbestimmungen benützt, von Kuttner und Cohen (Journ. biol. Chem., **75**, 517, 1927) wurde das Verfahren auf die Bestimmung des Calciumphosphats übertragen.

Eisen und Kupfer in geringer Menge stören nicht, dagegen stören schon Spuren von Salpetersäure (0,0001%). Auch eine Reihe orga-

[8]) Die Methoden sind im Prinzip den neueren kolorimetrischen Methoden zur Mikrobestimmung des Magnesiums als Phosphat analog. Vgl. das vorhergehende Sammelreferat S. 469, sowie das Sammelreferat über die Mikrophosphorbestimmung von Strebinger in Mikrochemie, Band 7.

nischer Säuren stört schon in geringer Konzentration. (Vgl. hierüber KUTTNER und COHEN l. c.)

Die letzte der angeführten Modifikationen der Calciumbestimmung als Phosphat ist für besonders kleine Calciummengen erprobt. KUTTNER und COHEN geben an, daß mit Hilfe dieser Methode noch 0,00125 mg bis 0,009 mg Calcium quantitativ bestimmt werden können (Mikrokolorimeter).

VI. Fällung des Calciums als fettsaures Salz.

Die Fällung des Calciums als fettsaures Salz, die schon seit langem bei der Härtebestimmung des Wassers nach dem Verfahren der alten CLARK'schen Seifentitration eine Rolle spielt, erhielt in neuerer Zeit erhebliche Bedeutung für die Mikroanalyse.

Als erster versucht DIENES das Prinzip des Makroverfahrens zu einer Mikrobestimmung der Erdalkalien auszubauen, indem er die Seifentitration einfach auf kleine Mengen Substanz übertrug. Die Notwendigkeit von Leerversuchen mit großen Korrekturwerten machen das Verfahren jedoch sehr ungenau. Mikrochemisch verwendbar wurde die Calciumseifenfällung erst als es sich zeigte, daß sich die fettsauren Calciumsalze in ausgezeichneter Weise für die Nephelometrie kleiner Mengen Calcium eignen. Die Methode von LYMAN gestattet durch Fällung des Calciums mit Hilfe von Kaliumricinat, bezw. Ammoniumstearat eine auf 1% genaue Bestimmung noch bei Calciummengen von 0,2 mg Ca. (Nach Angabe LYMAN's, vgl. Journ. biol. Chem., **21**, 551, 1915; 29, 169, 1917.)

An Stelle der Messung des Tyndalleffektes (Nephelometrie) kann auch die im durchfallenden Licht durchführbare Messung der durch die Trübung verursachten Beschattung in einem Kolorimeter treten, die nach DENIS (Journ. biol. Chem., **47**, 27, 1921) als Turbidimetrie bezeichnet wird. Eine Modifikation des LYMAN'schen Verfahrens benützten ferner DENIS und MINOT (Journ. biol. Chem., **41**, 357, 1920).

Die Eigenschaft der Seifenlösungen, sich in neutraler Lösung durch Hydrolyse und Ausfallen der sauren Salze von selbst zu trüben, führte zur Verwendung des Salzes einer sulfonierten Fettsäure. Nach RONA und KLEINMANN wird das Reagens durch Auflösen von 10 cc Natriumsulforicinat nach BERLIOZ-HERYNK (MERCK) in 112 ccm n-NaOH und Auffüllen mit Leitfähigkeits-

wasser auf 125 ccm hergestellt. Die in zirka 3 Tropfen Salzsäure gelöste Substanz wird mit einigen Tropfen Ammoniak alkalisch gemacht, mit 5 ccm des Reagens versetzt und im KLEINMANN'schen Nephelometer mit einer Standardcalciumlösung verglichen. Die Standardlösung wird durch Lösen von reinstem Calciumkarbonat in Salzsäure hergestellt und in paraffinierten Flaschen aufbewahrt. Ist — wie in biologischem Material meistens — außer Calcium auch noch Magnesium vorhanden, so muß nach RONA und KLEINMANN das Calcium vor der Bestimmung durch Oxalatfällung isoliert werden. Es lassen sich noch Lösungen von 0,16 bis 1,6 mg% Calcium auf diese Weise nephelometrisch bestimmen. (RONA und KLEINMANN, Biochem. Ztschr., **137**, 157, 1923.)

Eine Nachprüfung der Methode von RONA und KLEINMANN durch KRISS ergab, daß Sulforicinat in Gegenwart von Ammonsalzen nur Calcium ausfällt; die durch das Reagens verursachte Trübung entspricht unter diesen Umständen nur dem Calciumgehalt und kann zu seiner Messung auch in Gegenwart von Magnesiumsalzen dienen. (Biochem. Ztschr., **158**, 203, 1925; ferner ibidem, **162**, 359, 1925.)

Gravimetrische, bezw. titrimetrische Mikromethoden der Calciumfettsäurefällung benützen MIRKIN und DRUSKIN (Journ. of labor. and clin. med., **8**, 334, 1923). Calcium (bezw. Magnesium) wird durch Ammoniumstearat gefällt, abfiltriert, mit gesättigter Stearatlösung und sodann mit Petroläther gewaschen, bei 130 bis 140° getrocknet, und a) als Calciumstearat gewogen, b) in einem gemessenen Überschuß gestellter Säure gelöst und der Überschuß zurücktitriert. Magnesium fällt in gleicher Weise und muß daher auf rechnerischem Wege ermittelt und in Abzug gebracht werden. (Vgl. auch S. 473.)

GREGOIRE, CARPIAUX, LAROSE und SOLA benützen zur kolorimetrischen Bestimmung des Calciums ferner die schwach gelbliche Färbung des Calciumoleats. Nach Angabe der Autoren genügt zur Bestimmung eine Calciummenge von $5 . 10^{-6}$ g = = 005 mg Calcium. (Bull. Soc. Chim. Belg., **32**, 123, 1923.)

VII. Fällung des Calciums als Ferrocyanid.

Die Methode ist zuerst von FEIGL und PAVELKA (Mikrochem., **2**, 85, 1924) angegeben worden, und hat sich, da auch das Magne-

sium die gleiche Reaktion gibt, namentlich für die Bestimmung der Härte des Wassers gut bewährt. Die Bestimmung erfolgt am besten nephelometrisch. KRISS (Biochem. Ztschr., **162**, 360, 1925) verwendet für diese Bestimmung das KLEINMANN'sche Nephelometer. Da sich mit Hilfe dieser Methode in Lösungen, die Calcium und Magnesium enthalten, die Summe beider Metalle bestimmen läßt, läßt sich die Methode in der Wasseranalyse sehr gut mit der Nephelometrie des Calciums mit Sulforicinat kombinieren, so daß sich aus der Differenz der bei beiden Bestimmungen erhaltenen Werte auch der Magnesiumgehalt ergibt.

Die Fällung erfolgt in neutraler, 50% Alkohol enthaltender Lösung mittels Ammoniumferrocyanid. Barium und Strontium fallen unter gleichen Bedingungen nur in konzentrierter Lösung[*]). MACCHIA (Chem.-Ztg., **52**, 281, 1928) verwendet die Fällung des Ferrocyanids daher auch zur Trennung des Calciums von Barium und Strontium. Er fällt mit Kaliumferrocyanid, löst nach dem Abfiltrieren mit verdünnter Salzsäure und fällt als Oxalat, das dann durch Glühen in Oxyd übergeführt und gewogen wird. Die Methode ist seither von DIAZ DE RADA (Anales soc. espanola fis. quim., **27**, 390, 1929) auch für ein titrimetrisches Verfahren der Calciumbestimmung verwendet worden. (Kobaltnitrat als Indikator.) Eine elektrometrische Bestimmung des Calciums als Ferrocyanid ist von ATANASIU (Journ. Chim. Phys., **23**, 501, 1926) angegeben worden.

VIII. Fällung des Calciums als Wolframat.

Die Calciumfällung als Wolframat, die nach CONGDON, EDDY und MILLIGAN (Chem. News, **128**, 244, 1924) zu den genauesten Calciumbestimmungsmethoden der Makroanalyse zählt, ist in den letzten Jahren von ASTRUC, MOUSSERON und BOUISSOU (Compt. rend. Acad. Sciences, **190**, 376, 1930) zu einer kolorimetrischen Mikromethode verwendet worden. Sie beruht darauf, daß die Wolframsäure der Calciumwolframatfällung durch Titantrichlorid zu Wolframblau reduziert und hierbei entstehende Blaufärbung kolorimetriert wird. (Vgl. auch MOUSSERON und BOUISSOU, Bull. soc. chim. biol., **12**, 482, 1930.)

[*]) Vgl. auch SINGLETON, Industr. Chemist and Chemical Manufact., **5**, 71, 1929.

Die Calciumlösung wird im Zentrifugenrohr mit einem Kubikzentimeter 5%igem Natriumwolframat in der Hitze (70 bis 80°) gefällt, abzentrifugiert und mit Wasser dreimal gewaschen. Durch Erwärmen mit Salzsäure wird das Calciumwolframat zersetzt, das sich abscheidende gelbe Wolframsäureanhydrid neuerlich abzentrifugiert und der Rest des Calciums mit Salzsäure ausgewaschen. Das Wolframsäureanhydrid wird sodann in 20%iger Kalilauge gelöst, die Lösung mit Salzsäure gegen Lackmus neutralisiert, weitere 0,3 ccm n-Salzsäure und 0,3 ccm Titantrichlorid hinzugegeben. Dann wird auf 10 ccm aufgefüllt und gegen eine Standardlösung kolorimetriert. Zur Bestimmung gelangen Mengen zwischen 0,1 mg und 1,5 mg Ca; Eisen und Phosphate stören die Bestimmung nicht. (Die Titanlösung wird gegen Eisen eingestellt: 1 cc Titanchlorür entspricht 2 mg Eisen. Gestellt durch Entfärbung der Rhodaneisenreaktion.)

IX. Die Fällung als Calcium-Kalium-Nickel-Nitrit

ist für die Mikroanalyse des Calciums dadurch von Bedeutung, daß es möglich ist, das Nitrit quantitativ in Ammoniak überzuführen, der dann nach Destillation leicht titrimetrisch bestimmt werden kann. Nach ASTRUC und MOUSSERON wird die Bestimmung in der Weise durchgeführt, daß das im Zentrifugiergläschen gefällte und mit 20%igem, wässerigem Aceton sowie mit Alkohol-Äther gewaschene Doppelsalz in Wasser gelöst und unter Zusatz von Natronlauge, Aluminium und Zinkpulver in dem von der Mikrokjeldahlbestimmung des Stickstoffs nach PREGL her bekannten Apparat nach PARNAS und WAGNER eingebracht wird. Das entwickelte Ammoniak wird mit Wasserdampf in n/100-Schwefelsäure eingeleitet, der Überschuß der Säure mit n/100-NaOH und mit Methylrot als Indikator titriert.

Bestimmt können Calciummengen von 0,3 bis 1,0 mg werden, Abwesenheit der anderen Erdalkalien ist Voraussetzung, Korrektur 0,2 mg% Calcium plus. (ASTRUC und MOUSSERON, Compt. rend. Acad. Sciences, **190**, 1558, 1930.)

X. Die Bestimmung des Calciums als Alizarinat.

Das Verfahren nach LAIDLAW und PAVNE ist bereits oben bei Besprechung der Oxalatmethoden referiert worden, da das Calcium

nach dem Verfahren der Autoren vor der Bestimmung als Oxalat isoliert wird. (Vgl. S. 497.)

XI. Die Fällung des Calciums als Sulfit.

Die Schwerlöslichkeit des Calciumsulfits in verdünntem Alkohol wird von Mazza und Rossi (Boll. Soc. Ital. Biolog. sperimentale, **4**, 1929) für eine titrimetrische Mikrobestimmung des Calciums ausgenützt. 1 ccm der neutralen Calciumlösung, die 0,1 bis 4,0 mg Ca enthalten darf, werden in einem Zentrifugenröhrchen mit 1 ccm 20%iger Ammonsulfitlösung und 1 ccm 95%igem Alkohol versetzt und auf dem Wasserbad erhitzt. Nach drei Minuten wird scharf abzentrifugiert, dekantiert, mit je 2 ccm 50%igem Alkohol aufgewirbelt und zentrifugiert; hierauf wird noch einmal mit kaltem Wasser gewaschen. Schließlich wird n 100-Jodlösung zugesetzt, mit verdünnter Salzsäure angesäuert und umgeschüttelt. Nach Zusatz von Stärkelösung wird mit n 100-Thiosulfat zurücktitriert. Magnesium und Phosphate stören nicht, biologische Flüssigkeiten müssen vorher verascht werden (Mazza und Rossi, Diagnostica e technica labor., **1**, 147, 1930).

Die Löslichkeit des Calciumsulfits in Wasser beträgt nach Polonovski (Bull. Soc. chim. France, **31**, 806, 1923) 1 : 700, während die Löslichkeit des Bariumsulfits 1 : 7000, die des Strontiumsulfits 1 : 36.000 beträgt. Die Methode wäre daher vielleicht auf die anderen Erdalkalimetalle mit gutem Erfolg übertragbar.

XII. Die Fällung des Calciums als Oxychinolat.

Auch für die Bestimmung des Calciums ist die Fällung mit Oxychinolin versucht worden. (Vgl. Kolthoff, Chem. Weekbl., **24**, 606, 1927.) Die Anwesenheit von Barium sowie die Anwesenheit kleiner Mengen Ammonium stört nicht, Strontium stört.

Für die Mikrobestimmung des Calciums im Blut wurde die Oxychinolinfällung von Yoshimatsu (Tohoku Journ. of exper. med., **15**, 355, 1930) benützt. Nach dieser Methode werden Calcium und Magnesium gleichzeitig als Oxychinolin-Komplexsalze gefällt, scharf abzentrifugiert und der gewaschene Niederschlag mit ammoniakalischer Ammonchloridlösung ausgekocht, wobei das Calciumsalz in Lösung geht. Dann wird durch einen Glassintertiegel

filtriert. Filtrat und Waschflüssigkeit werden vereinigt und mit Salzsäure angesäuert. Im Filtrat wird das gelöste Komplexsalz mittels Phenolreagens (Phosphormolybdänsäure — Phosphorwolframsäure) kolorimetrisch bestimmt.

XIII. Spektralanalytische Methoden.

Die spektralanalytische Bestimmung des Calciums ist in neuerer Zeit von HUKUDA (Bull. Chem. Soc. Japan, **2**, 115, 1927) studiert worden. Für die Bestimmung kleiner Mengen Calcium eignet sich nach ZAMBONINI und CAGLIOTI (Atti R. Accad. Lincei, [6], **8**, 268, 1928) die Beobachtung des Verschwindens, bezw. Wiedererscheinens der Linien des Calciumspektrums.

Anhang.

Die Bestimmung der Calciumionenkonzentration, die ebenfalls bereits mit sehr kleinen Substanzmengen durchgeführt werden kann und namentlich biologisch eine große Rolle spielt, entspricht einer mehr physikalisch-chemischen Fragestellung und kann daher hier nicht im einzelnen referiert werden. Sie erfolgt:

1. Durch Messung der elektromotorischen Kraft.

Vgl. hierüber: DRUCKER und LUFT, Ztschr. physikal. Chem., **121**, 307, 1927, LUCASSE, Journ. Amer. chem. Soc., **47**, 743, 1925, MARSHALL und NEUHAUSEN, Journ. biol. Chem., **53**, 365, 1922, FOSBINDER, Journ. Amer. chem. Soc., **51**, 1345, 1929, CORTEN und ESTERMANN, Ztschr. physikal. Chem., **136**, 228, 1928, LE BLANC und HARNAPP, Ztschr. Elektrochem., **36**, 116, 1930. (Vgl. auch ältere Untersuchungen von LUTHER, Ztschr. physikal. Chem., **27**, 364, 1899, u. a.)

2. Durch Fällung nach dem Löslichkeitsprodukt.

Nach BRINKMANN und VAN DAM (Koninkl. Akad. von Wetensch. Amsterdam, Wisk. en Natk. Afd., **28**, 417, 1920, ferner **32**, 7, 1924) wird soviel Oxalat zugefügt, bis das Auftreten einer feinen Trübung zeigt, daß das Löslichkeitsprodukt erreicht ist.

Genauigkeit 2 bis 3 mg im Liter. (Vgl. hierüber auch BUDDE und FREUDENBERG, Ztschr. f. d. ges. exp. Med., **42**, 284, 1924, Klin. Wochenschr., **1924**, 232; HAMBURGER, Erg. Physiol., **23**, 115, 1924; BEHRENDT, Monatsschr. f. Kinderhlkde., **27**, 458, 1924, PULAJ, Dermatol. Wochenschr., **1923**, 4.

Quantitative Bestimmung des Strontiums.

Von **Zdenko Stary**, Prag.

Zur Trennung von Calcium dienen die folgenden Verfahren:

1. Extraktion des trockenen Nitratgemenges durch organische Lösungsmittel.

Das alte STROHMAYER'sche Verfahren (vgl. ROSE, Pogg. Annal., **110**, 296, 1860; FRESENIUS, Ztschr. analyt. Chem., **32**, 189, 1893; BROWNING, Amer. Journ. Science, **41**, 288) ist neuerdings von SZEBELLEDY (Ztschr. analyt. Chem., **70**, 45, 1927, Magyar chem. Folyoirat, **35**, 59, 1929) modifiziert und auch für kleine Strontiummengen erprobt worden. Die bei 180° getrockneten Nitrate werden mit dem nach WINKLER (Ber. Deutsch. Chem. Ges., 38, 3612, 1905) getrockneten Alkohol extrahiert und mit Isobutylalkohol nachgewaschen. Die Werte fallen bei kleinen Strontiummengen für das Strontium zu niedrig aus, eine Korrekturrechnung wird von SZEBELLEDY angegeben. Über das Verfahren vgl. auch SINGLETON, Ind. Chemist and Chem. Manufacturer, **5**, 71, 1929. Das Verfahren von RAWSON (Journ. of the Soc. of Chem. Ing., **16**, 113), der die Trennung von Calcium und Strontium durch Extraktion des Nitratgemenges mit konzentrierter HNO_3 vorgeschlagen hat, gibt nach MOSER und MACHIEDO (Chem.-Ztg., **35**, 337, 1911) nur ungenaue Resultate und ist auch für die Mikroanalyse wohl ohne Bedeutung.

2. Fällung des Calciums als Ferrocyanid.

Das Calcium fällt als $CaK_2Fe(CN)_6$, $2H_2O$, wird abfiltriert, mit halbgesättigter Kaliumferrocyanidlösung gewaschen, sodann in Salzsäure gelöst und nach der Oxalatmethode bestimmt. Im Filtrat wird das Barium als Chromat abgeschieden (vgl. S. 517) und das

Strontium als Carbonat bestimmt (MACCHIA, Chem.-Ztg., **52**, 281, 1928).

3. Auf indirektem Wege.

Die indirekte Methode, die für die Makroanalyse von KNOBLOCH (Ztschr. analyt. Chem., **37**, 733, 1899) durch Wägung der Oxyde und Carbonate vorgeschlagen worden war, ist für die mikroanalytische Trennung von Calcium und Strontium von HODEL, ferner von ARNDT und HAFNER verwendet worden. Vgl. weiter unten (Oxalatfällung).

4. Über spektroskopische Methoden, die die Bestimmung von Strontium in Anwesenheit von Calcium gestatten, vgl. das weiter unten Gesagte.

Die wichtigsten gravimetrischen Bestimmungsformen des Strontiums sind:

A. Das Carbonat. 1 mg $SrCO_3$ entspricht 0,5936 mg Sr.

B. Das Sulfat. 1 mg $SrSO_4$ entspricht 0,4771 mg Sr.

Als titrimetrische Bestimmungsformen sind hervorzuheben:

1. Das Carbonat (eventuell über das Oxalat gewonnen [acidimetrisch]).

2. Das Oxalat (manganometrisch).

3. Das Chromat (jodometrisch).

1 cc n/10 Titerflüssigkeit entspricht 4,38 mg Sr.

Eine besondere Bedeutung haben beim Strontium die weiter unten referierten spektralanalytischen Methoden.

I. Die Fällung des Strontiums als Carbonat.

Das Strontiumcarbonat ist in Wasser wesentlich schwerer löslich als das Sulfat oder Oxalat, die Fällung mit Hilfe von Ammoniumcarbonat mit nachfolgender Wägung als Oxyd wird in der Makroanalyse viel verwendet. Für mikrochemische Bestimmungen empfiehlt DONAU (Arbeitsmethoden der Mikrochemie) das mit Ammoniumcarbonat gefällte Strontiumcarbonat. Nach schwachem Glühen als Carbonat zu wägen. Die Wägungsform hat jedoch gegenüber dem von STREBINGER und MANDL (siehe weiter unten) empfohlenen Sulfat den Nachteil, daß es stark hygroskopisch ist und ein im Verhältnis zu dem Atomgewicht des Strontiums geringes Molekulargewicht hat.

II. Fällung des Strontiums als Sulfat.

Für die mikroanalytische Bestimmung des Strontiums ist die Fällung als Sulfat von STREBINGER und MANDL (Mikrochemie, **4**, 168, 1926) empfohlen worden. Die Fällung erfolgt in schwefelsaurer Lösung in 50%igem Alkohol bei 50 bis 60°, die Filtration nach zweistündigem Stehen im Filterröhrchen, die im PREGL'schen Regenerierungsblock in Luft bei 170 bis 180° getrocknet und nach 30 Minuten gewogen wird. Untere Grenze der Bestimmbarkeit 0,3 bis 0,4 mg Sr.

Eine titrimetrische Bestimmung des Strontiums als Sulfat mit Hilfe von Leitfähigkeitsbestimmungen ist von KOLTHOFF (Ztschr. analyt. Chem., **62**, 1, 1923) versucht worden, gibt jedoch keine guten Resultate.

III. Fällung des Strontiums als Oxalat.

In Abwesenheit von Calcium, Barium und größeren Mengen Magnesium läßt sich bekanntlich das Strontium als Oxalat mit 1 Mol. Wasser gut bestimmen. (Vgl. auch WINKLER, Ztschr. angew. Chem., **31**, 80, 83, 1928.) Das Verfahren ist in neuerer Zeit von SZEBELLEDY (Ztschr. analyt. Chem., **70**, 39, 1927) nachgeprüft und empfohlen worden. Es gibt bei Bestimmung kleiner Mengen Strontium zu niedrige Werte, Verbesserungswerte sind von den Untersuchern (vgl. auch SZEBELLEDY, l. c. und Magyar chem. Folyoirat, **35**, 77, 1929) angegeben.

In Gegenwart von Calcium fällt WINTER (Journ. Ind. a. Engin. Chem., **8**, 603, 1923) beide Erdalkalimetalle gemeinsam als Oxalate, führt dann in Nitrat über und trennt in der bekannten Weise. (Vgl. S. 508.)

Die Versuche zur Bestimmung von Strontiumoxalat auf thermometrischem Wege (MAYR und FISCH, Ztschr. analyt. Chem., **76**, 418, 1929) werden wohl vorderhand auf die Makroanalyse beschränkt bleiben. Auf indirektem Wege, durch gravimetrische Bestimmung des Oxalatniederschlages, ermittelte HODEL (Helv. chim. Acta, **8**, 516, 1925) das Mischungsverhältnis der beiden Erdalkalimetalle. In ähnlicher Weise gehen auch ARNDT und HAFNER vor (Biochem. Ztschr., **174**, 182, 1926). Nach FAY (Amer. Journ. Physiol., **77**, 73, 1926) wird das im Blute vorhandene Strontium durch die

Calciumoxalatmethode (nach KRAMER und TISSDALL, vgl. S. 483, 491) nicht quantitativ ausgefällt. Bei künstlichem Zusatz von Strontiumsalzen zum untersuchten Blut konnten mit Hilfe dieser Methode nur zirka 25% wiedergefunden werden.

IV. Andere Fällungsformen des Strontiums.

Die übrigen für die Makroanalyse in Betracht kommenden schwerlöslichen Salze, z. B. Strontiumdiuranat (Analysenfaktor 0,1295, das heißt 1 mg der Fällung entspricht 0,1295 mg Sr) u. a., haben als Bestimmungsform des Strontiums bisher in der Mikroanalyse keine nennenswerte Bedeutung erlangt. Über die titrimetrische Bestimmung des Strontiums als Ferrocyanid, mit Kobaltnitrat als Indikator, vgl. DIAZ DE RADA (Anales de soc. espanola fis. quim., **27**, 390, 1929). Über die Fällung des Strontiums als Chromat nach Zusatz von Alkohol vgl. KOLTHOFF (Pharmac. Weekbl., **57**, 972, 1920, ferner **57**, 1080, 1920). Vgl. hierüber auch die älteren Arbeiten von HORN DE BOS (Chem. Weekbl., **8**, 5, 1911, titrimetrische Bestimmung als Chromat). Die Leitfähigkeitstitration als Strontiumchromat wurde von KOLTHOFF (Ztschr. analyt. Chem., **62**, 97) versucht, gibt aber kein gutes Resultat.

V. Spektralanalytische Methoden.

Eine halbquantitative Methode der spektralanalytischen Bestimmung von Strontium ist von HUKUDA (Bull. Chem. Soc. Japan., **2**, 115, 1927) ausgearbeitet worden. Kleine Mengen Strontium lassen sich durch die Grenzkonzentration, bei der einzelne Linien des Strontiumspektrums eben noch sichtbar sind, bestimmen. Die Anwesenheit von Bariumsalzen stört hierbei nicht, Calcium in großem Überschuß ist von Nachteil. Näheres über das besonders für die Gesteinsanalyse bestimmte Verfahren vgl. bei ZAMBONINI und CAGLIOTI (Atti R. Accad. Lincei, **8**, 268, 1928).

An Stelle der Beobachtung des Verschwindens der Strontiumlinien schlägt MEUNIER vor, das Strontium in der Weise spektroskopisch zu bestimmen, daß eine Vergleichsskala von Mischungen von Strontium und Eisen hergestellt und die Intensität bestimmter Linien beider Spektren verglichen wird (MEUNIER, Compt. rend. Acad. Sciences, **182**, 1160, 1926).

Quantitative Bestimmung des Bariums.

Von **Zdenko Stary**, Prag.

In Abwesenheit anderer, nicht flüchtiger Bestandteile kann das bariumhaltige Material entweder durch Abrauchen mit Schwefelsäure in Sulfat (PREGL, Quantitative organische Mikroanalyse, S. 158, 164) oder durch Erhitzen mit Oxalsäure im Überschuß in Oxalat übergeführt werden. Wägungsform ist im ersteren Fall das wasserfreie Sulfat, im letzteren das Carbonat, das aus dem Oxalat schon bei beginnender Rotglut entsteht. (Vgl. auch MALJAROFF, Mikrochemie, **6**, 92, 1928.) Über die Fehlergrenzen der Bariumbestimmung durch Abrauchen als Sulfat vgl. CONGDON und FITZGERALD (Chem. News, **128**, 274, 1924).

Das genannte Oxalatverfahren ist auch zur Abtrennung von den Alkalimetallen geeignet; das Gemenge der durch Glühen erhaltenen Carbonate wird mit einer kleinen Menge Wasser extrahiert, wobei das Bariumcarbonat ungelöst zurückbleibt. In der Regel wird man das Barium aber von den Alkalimetallen und dem Magnesium durch Fällung in wässeriger Lösung isolieren. Die für die Mikroanalyse wichtigsten Fällungsformen des Bariums sind das Sulfat und das Chromat; daneben kommt gelegentlich auch noch die Abscheidung als Carbonat, Oxalat oder Ferrocyanid in Betracht.

Zur Trennung des Bariums vom Calcium ist die Fällung als Chromat das gebräuchlichste Verfahren. Sie ist bereits auch mikroanalytisch erprobt, schon bei einmaliger Fällung gibt sie gute Resultate und kann mit Mengen von zirka 1 mg Ca. bezw. Ba noch gut durchgeführt werden (STREBINGER, Mikrochemie, **7**, 100, 1929). Etwas größere Mengen Material erfordert die Trennung von Calcium und Barium durch Extraktion des trockenen Nitratgemenges mit organischen Extraktionsmitteln analog dem im vorangehenden Kapitel zur Trennung von Calcium und Strontium referierten Verfahren (Literatur siehe oben im Kapitel Strontium, S. 508). Über die Extraktion des Nitratgemenges mit HNO_3 zur Lösung des Calciumnitrats nach RAWSON vgl. das oben Gesagte (S. 508). Über die Trennung des Calciumchlorids von Bariumchlorid durch Lösen in konzentrierter Salzsäure nach Zusatz von Äther vgl. MAR, Amer. Journ. Science, **43**, 521.

Zur Trennung des Bariums vom Strontium sind verschiedene Vorschläge gemacht worden:

a) Die Fällung des Bariums als Chromat. Meist ist die doppelte Fällung nötig. Die Trennung ist makroanalytisch von vielen Untersuchern studiert. (Literatur siehe bei FRESENIUS [Ztschr. analyt. Chem., **29**, 413, 1890], SKRABAL und NEUSTADTL [Ztschr. analyt. Chem., **44**, 742, 1905], SZEBELLEDY [Ztschr. analyt. Chem., **70**, 52, 1927].)

b) Durch Fällung des Bariums als Fluorsilikat. Neben älteren Untersuchungen (SCHWEITZER, Proc. Amer. Assoc. Adv. Scienc., **26**, 187; FRESENIUS, Ztschr. analyt. Chem., **29**, 143, 1908) wird die Methode in neuerer Zeit empfohlen von LEO (Monatsh. Chem., **43**, 567, 1922). Siehe dort auch die Versuche zur Trennung von Strontium und Barium als Thiosulfat.

c) Durch Extraktion der Bromide mit organischen Lösungsmitteln (BROWNING, Amer. Journ. Science, **44**, 459, Amylalkohol als Extraktionsmittel). Das Verfahren ist von SZEBELLEDY (Ztschr. analyt. Chem., **78**, 203, 1929) verbessert (Isobutylalkohol als Lösungsmittel) und auch für geringe Mengen Strontium (zirka 4 mg) und Barium (zirka 5 mg) versucht worden. (Fehlergrenzen siehe bei SZEBELLEDY.) — Ein ähnliches Verfahren durch Extraktion der Chloride ist auch von GOOCH und SODERMANN angegeben worden.

d) Die bekannte Methode der Zersetzung des Strontiumsulfats durch Alkalikarbonate (FRESENIUS, Ztschr. analyt. Chem., **29**, 20, 1890) ist mikroanalytisch bisher noch nicht erprobt worden. (Vgl. auch KOUKLIN, Journ. chem. Soc., **62**, 1276.)

Die wichtigsten gravimetrischen Bestimmungsformen des Bariums sind:

a) Das Sulfat. 1 mg $BaSO_4$ entspricht 0,696 mg Ba.

b) Das Chromat. 1 mg $BaCrO_4$ entspricht 0,5871 mg Ba.

Titrimetrische Verfahren beruhen auf der Fällung als Sulfat oder Chromat und auf der jodometrischen Bestimmung des Chromats der Bariumchromatfällung. 1 ccm n/10 Titerflüssigkeit entspricht 6,87 mg Ba.

I. Fällung als Bariumsulfat.

Die Bestimmung des Bariums als Bariumsulfat gehört zu den beststudierten Methoden der anorganischen Analytik. Die Fehlerquellen der Methode sind in den letzten Jahren wiederholt und ausführlich untersucht worden. JENSEN (Analyst, **53**, 136, 1928) prüfte die Ursachen der Verluste an $BaSO_4$ bei der Bestimmung kleiner Mengen Barium, Mme. und M. LEMARCHANDS (Compt. rend. Acad. Sciences, **187**, 601, 1928) bestimmten die Löslichkeit des $BaSO_4$ in heißem Wasser, Salzsäure und Calciumchloridlösungen, GERMUTH (Amer. Journ. Pharmac., **99**, 271, 1927) die Bedingungen der Okklusion von $BaSO_4$, BALAREW untersuchte namentlich die Adsorption von Salzen an das $BaSO_4$ bei langsamer oder plötzlicher Fällung. (Ztschr. analyt. Chem., **72**, 303, 1927.)

Wird $BaSO_4$ aus salzhaltigem Milieu gefällt, so enthält es fast bei jeder Art der Fällung kleine Mengen Chlor, die sich durch Waschen nicht entfernen lassen. (Vgl. COBENZL, Chem.-Ztg., **50**, 168, 1926, u. a.) Die Existenz von Verbindungen vom Typus $Ba(KSO_4)_2$ und $(BaCl)_2SO_4$ haben neben älteren Untersuchern (DUSCHAK, Ztschr. anorgan. Chem., **40**, 196, 1909) in neuerer Zeit namentlich KARAOGLANOW (Ztschr. analyt. Chem., **56**, 225, 417, 487, 561, 1917) und KOLTHOFF und VOGELENZANG (Ztschr. analyt. Chem., **58**, 49, 1919) und BALAREW (Ztschr. analyt. Chem., **72**, 303, 1927) diskutiert.

Eine Methode zur Fällung besonders reiner, gut filtrierbarer und gut auswaschbarer $BaSO_4$-Niederschläge ist von HAHN (B., **55**, 3436, 1922; Ztschr. anorgan. u. allg. Chem., **126**, 257, 1923) angegeben und von KOLTHOFF und CITTERT (Ztschr. analyt. Chem., **63**, 392, 1923) in Einzelheiten modifiziert worden. Die Methode erzielt durch Fällung „in extremer Verdünnung" die Bildung möglichst großer, gut ausgebildeter Bariumsulfatkristalle, während NJEGOVAN und MARJANOVIĆ (Ztschr. analyt. Chem., **73**, 271, 1928, ebenda **74**, 191, 1928, und **82**, 154, 1930), von kolloidchemischen Gesichtspunkten ausgehend, im Gegenteil die Bildung möglichst kleinkristallinischer und nach den Untersuchungen der Autoren auch wenig fremde Salze okkludierender Niederschläge zu erreichen suchen. (Über Zersetzung, bezw. Reduktion von $BaSO_4$ beim Glühen vgl. KARAOGLANOW, a. a. O. S. 225.)

a) Die Übertragung der gravimetrischen Bestimmung auf die Mikroanalyse macht bei Abwesenheit der anderen Erdalkalimetalle und der Schwermetalle wenig Schwierigkeiten. Die Mikrofiltration und Wägung des $BaSO_4$ ist bereits von PREGL (Quant. organ. Mikroanalyse, S. 144 ff.) für die Mikrobestimmung des Schwefels in organischen Substanzen ausgearbeitet und erprobt worden. Nach STREBINGER (Mikrochemie, **7**, 100, 1929) erfolgt die Fällung zweckmäßig durch Zusatz von Ammonsulfat in Salpetersäure in geringem Überschuß. Nach dem Absitzen erfolgt die Filtration analog der PREGL'schen Vorschrift im Mikro-Neubauer-Tiegel. Dann wird im Kupferblock zu gelinder Rotglut erhitzt und nach dem Erkalten im Mikroexsikkator gewogen.

Die Filtration des $BaSO_4$ kann auch im Filterstäbchen mit Asbestfüllung erfolgen (HÄUSLER, Ztschr. analyt. Chem., **64**, 371, 1924), oder aber in einem Porzellanfilterstäbchen nach EMICH. SCHWARZ-BERGKAMPF (Ztschr. analyt. Chem., **69**, 328, 1926) löst eine Einwaage entsprechend 1,5 bis 3 mg Ba in 2 ccm Wasser, setzt 1 Tropfen 10%iger Salzsäure zu und fällt in der Hitze mit 1 bis 2 Tropfen 20%iger Schwefelsäure. Er läßt 5 Minuten in der Hitze stehen, dann 10 Minuten unter der Glasglocke abkühlen, filtriert, wäscht dreimal mit heißem Wasser, trocknet schwach und wiegt nach Erkalten.

Statt zu erhitzen, kann man das Bariumsulfat auch durch Waschen mit 96% Alkohol und Äther und nachfolgendem Evakuieren trocknen. Eine Reduktion des Sulfats zu Sulfid, wie sie beim Veraschen des Filters sonst leicht eintreten kann, ist hierbei natürlich ausgeschlossen. (Vgl. DICK, Ztschr. analyt. Chem., 77, 357, 1929.) Für sehr kleine Mengen Barium ist die Sulfatmethode der Chromatmethode vorzuziehen (WINKLER, Ztschr. angew. Chem., **30**, 301, 1918). Nach STREBINGER (l. c.) empfiehlt es sich daher, bei der Trennung vom Calcium das Bariumchromat in Sulfat überzuführen und als solches zu bestimmen.

An die Stelle der Filtration kann auch die Isolierung im Sedimentierröhrchen treten, der Niederschlag wird nach der Fällung abzentrifugiert, gewaschen, zur Gewichtskonstanz erhitzt und in dem Sedimentierröhrchen gewogen. (GARTNER, Monatsh. Chem., **41**, 498, 1924, Tabelle; vgl. auch DONAU, Monatsh. Chem., **32**, 1124, 1911.)

b) Die Bestimmung des Bariums als Sulfat kann auch auf titrimetrischem Wege erfolgen. (STREBINGER und ZOMBORY, Ztschr. analyt. Chem., **79**, 1, 1929.) Titerflüssigkeit n/5 Ammonsulfat oder n/4 Schwefelsäure, als Indikator auf überschüssige Bariumionen ist das Natriumrhodizonat gut geeignet, das von FEIGL als sehr empfindliches Reagens auf Bariumionen angegeben worden ist. (Vgl. auch ZOMBORY, Magyar Chem. Folyoirat, **35**, 90, 1929.)

GUYON empfiehlt zur maßanalytischen Bestimmung von $BaSO_4$ eine Art nephelometrische Titration. Man setzt zu der Lösung des Bariumsalzes so lange gestellte Schwefelsäure in kleinen Anteilen hinzu, bis kein weiteres $BaSO_4$ mehr ausfällt. Die bereits gefällten Anteile des $BaSO_4$ werden vor jedem neuerlichen Zusatz des Fällungsmittels durch kurzes Zentrifugieren aus der Lösung entfernt („Zentrifugometrie"). Die Methode ist nach GUYON sowohl für Mikro- als auch für Makrobestimmungen geeignet. (Vgl. GUYON, Compt. rend. Acad. Sciences, **183**, 361, 1926, ferner Bull. Soc. chim. France [4], **41**, 1387, 1927.)

c) Für die Bestimmung sehr geringer Bariumsulfatmengen scheinen nephelometrische Methoden besonders geeignet zu sein. Zusatz von Glycerin macht die $BaSO_4$-Aufschwemmung sehr gut haltbar, was schon daraus hervorgeht, daß glycerinhaltige $BaSO_4$-Aufschwemmungen direkt als allgemeiner Trübungsstandard in Vorschlag gebracht worden sind. (BECHHOLD und HEBLER, Kolloid-Ztschr., **31**, 132, 1922.)

Nach früheren Versuchen von KLEINMANN sind in neuerer Zeit nephelometrische Bariumsulfatbestimmungen von AOYAMA und DAIGO (Journ. pharmac. soc. Japan, **48**, 98 1928) zur Bestimmung von Verunreinigungen in Arzneimitteln versucht worden. Für allgemein mikroanalytische Zwecke wurde die nephelometrische Methode neuerdings von KŘEPELKA und KALINA (Chemické Listy, **22**, 545, 1928) ausgebaut. Die von diesen Autoren angegebene Methode gestattet die Bestimmung von Lösungen mit einem Bariumgehalt von zirka 3 mg%, bei einem maximalen Fehler von 0,5%, dürfte heute also eine derjenigen Methoden sein, die mit der geringsten Materialmenge auskommen.

d) Physikalisch-chemische Methoden der Bariumsulfatbestimmung.

Auf elektrometrischem Wege kann das Barium durch die Sulfatfällung nach dem Vorgehen von Müller und Wertheim (Ztschr. anorgan. Chem., **135**, 269, 1924) bestimmt werden. Die titrimetrische Bestimmung kleiner Mengen Barium durch Fällung als Sulfat kann auch durch Messung der Leitfähigkeit kontrolliert werden, da die Leitfähigkeit der Lösung so lange absinkt, so lange noch Barium durch Fällung aus der Lösung verschwindet. Als Titerflüssigkeit dient Lithiumsulfat (Kolthoff, Ztschr. analyt. Chem., **62**, 1, 1923). Die Methode gibt gerade bei sehr verdünnten Lösungen besonders genaue Resultate, zirka 7 mg Barium in 25 ccm Flüssigkeit geben einen sehr scharfen Umschlag. Setzt man der titrierten Lösung zirka 30% Alkohol zu, so wird die Leitfähigkeit nach jedem Zusatz sehr rasch konstant.

Auch radiometrisch kann die Bariumsulfatbestimmung erfolgen. (Vgl. hierüber Ehrenberg, z. B. Mikrochemie, Pregl-Festschrift, S. 64, 1929.)

II. Bestimmung des Bariums als Chromat.

Im Gegensatz zu der Bestimmung des Bariums als Sulfat, ist bei der Bestimmung als Chromat eine quantitative Trennung vom Calcium und Strontium gut möglich. Voraussetzung hierfür ist, daß nur ein geringer Überschuß Chromat zugesetzt wird, da sonst Strontiumchromat mit ausgefällt wird. Literatur über die Bariumchromatfällung siehe oben (S. 513).

Kleine Mengen Bariumchromat können in Sedimentierröhrchen gefällt und gewogen werden (Gartner, Monatsh. Chem., **41**, 498, 1920). Oder aber kann der Niederschlag, in ein Filterröhrchen eingebracht, bei 140° getrocknet und gewogen werden. Das letztere Verfahren hat jedoch den Nachteil, daß Gewichtskonstanz ohne Glühen nicht mit voller Verläßlichkeit erreicht werden kann und die Werte daher leicht etwas zu hoch ausfallen. Strebinger (Mikrochemie, **7**, 100, 1929) löst daher das gefällte Chromat in Salpetersäure auf und reduziert mit Alkohol zu Chromisalz, worauf das Barium in der bekannten Weise als Sulfat ausgefällt wird.

Über die Löslichkeit des Bariumchromats in verschiedenen Waschflüssigkeiten vgl. Waddell Analyst, **43**, 287, 1920; am zweckmäßigsten ist es, den Niederschlag in k a l t e m Wasser vor-

sichtig zu waschen. Steel (Analyst, **44**, 29, 1920) empfiehlt als Waschflüssigkeit gesättigte Bariumchromatlösung.

Die maßanalytische Bestimmung des Bariums als Chromat kann erfolgen:

1. Durch Titration mit gestellter Chromatlösung.

Das alte Verfahren des Tüpfelns mit Hämatoxylin, bezw. Blauholzextrakt ist von Congdon und Fitzgerald (Chem. News, **128**, 274, 1924) neuerlich geprüft und wegen des unscharfen Umschlags abgelehnt worden. Guyon schlägt daher vor, als Indikator für überschüssiges Chromat das Silbernitrat zu verwenden. (Guyon, Bull. Soc. chim. France, **41**, 99, 1927.) Mazzuchelli und Romani (Gazz. chim. Ital., **57**, 900, 1927) haben das Verfahren von Guyon dagegen als sehr ungenau befunden, da Silberchromat während der Titration mit dem ausfallenden Bariumchromat niedergerissen wird. Ebenso wie es für das Bariumsulfat von Strebinger und Zombory (a. a. O.) angegeben worden ist, kann das Bariumchromat jedoch auch mit Na-Rhodizonat als Indikator bestimmt werden. (Singleton, Ind. Chem. and Chem. Manufacturer, **5**, 71, 1929.)

Für mikroanalytische Zwecke kann der Umschlag dadurch noch erheblich verschärft werden, daß man die Methode acidimetrisch durchführt. Die gegen Bromthymolblau, Phenolrot und ähnliche Indikatoren alkalisch reagierende Kaliumchromatlösung erzeugt in der neutralen Lösung des Bariumsalzes so lange keine alkalische Reaktion, als noch lösliches Bariumsalz (mit stark dissoziiertem Anion) vorhanden ist, da für jede zugesetzte Menge Kalium eine äquivalente Menge des Anions durch die Bariumfällung frei wird. Ist jedoch das ganze Barium verbraucht, so bewirkt der nächste Tropfen Bariumchromat sofort alkalische Reaktion. (Balachowski, Ztschr. analyt. Chem., **82**, 206, 1930.) Nötige Bariummenge 1 bis 0,1 mg Ba. Pufferlösungen, Alkohol und Neutralsalze stören.

2. Durch jodometrische Bestimmung des bereits gefällten und gereinigten Chromats.

Die aus der Makroanalyse hinreichend bekannte Methode ist von Geilmann und Höltje (Ztschr. anorgan. Chem., **167**, 128, 1927) mit einigen Modifikationen auf die Bestimmung kleiner Barium-

mengen übertragen und auf ihre Zuverlässigkeit geprüft worden. Die Werte fallen wegen der Löslichkeit des Bariumchromats in der Waschflüssigkeit (siehe oben) etwas zu niedrig aus. Die jodometrische Titration kleiner Mengen Barium als Chromat ist ferner auch von ESTEVE (Ann. Chim. analyt. appl. [2], **6**, 229, 1924) empfohlen worden. Namentlich bei einem großem Überschuß anderer Erdalkalien gibt aber auch hier das direkte jodometrische Verfahren zu niedrige Werte.

3. Die jodometrische Titration des Chromatüberschusses nach Fällung mit einer gemessenen Menge Chromat gibt nach GEILMANN und HÖLTJE (l. c.) erheblich bessere Resultate. Bariummengen von zirka 5 mg lassen sich auf diese Weise noch auf 0,01 mg genau bestimmen. Eine von den Autoren angegebene kombinierte, direkte und indirekte Methode der Bariumchromattitration, die besonders genaue Werte geben soll, beruht darauf, daß die überstehende Chromatlösung von dem ausgefällten Bariumchromat abgehebert und die Menge des beim Niederschlag verbliebenen Restes der Lösung durch Wägung ermittelt wird. Sodann wird der Niederschlag in Salzsäure gelöst und mitsamt dem bei ihm verbliebenen Rest der Chromatlösung titriert.

III. Andere Bestimmungsformen des Bariums.

Die Fällung des Bariums als Oxalat, Ferrocyanid, Silicofluorid, Sulfit usw. hat auch für die Mikroanalyse bisher keine größere Bedeutung erlangt. ANGELESCU empfiehlt die Bestimmung des Bariums als Oxalat, trocknet bei 70° und wägt als Monohydrat. (ANGELESCU, Bull. Soc. chim. Romania, **5**, 12, 1924.) Die Fällung als Ferrocyanid kann auch zu einer titrimetrischen Bestimmung des Bariums benützt werden. (DIAZ DE RADA, Anales soc. Espanol. Fis. Quim., **27**, 390, 1929.) Ferner kann das Barium als Ferrocyanid auch durch elektrometrische Titration bestimmt werden. (ATANASIU, Journ. Chim. Phys., **23**, 501, 1926.)

Von physikalischen Methoden sei außer der bei den anderen Erdalkalien bereits erwähnten Methode von HUKUDA (Bull. Chem. Soc. Japan, **2**, 115, 1927) auch die für kleine Mengen Barium bestimmte Methode von ZAMBONINI und CAGLIOTI (Atti R. Accad.

Lincei Rendic., **8**, 268, 1928) erwähnt. Calcium und Strontium stören bei der spektralanalytischen Bestimmung des Bariums nicht.

Schließlich ist auch eine röntgenspektroskopische Methode zur quantitativen Bestimmung einzelner Elemente in Gemischen von Glocker und Frohnmayer (Ann. Phys., **76**, 369, 1925) für die Bestimmung von Barium in Glas verwendet worden. (Vgl. auch Glocker, Fortschritte auf dem Gebiet der Röntgenstrahlen, **31**, 91, 1923.)

Referate.

Analytisches über neuere Arzneimittel. Von L. ROSENTHALER. *Apotheker-Zeitung*, **45**, *S. 1017 (1930).*

Neben allgemeinen chemischen und chemisch-analytischen Angaben werden verschiedene mikrochemische Reaktionen bei nachfolgenden neueren Arzneimitteln gebracht: Rivanol, Phanodorm, Sandoptal, Panthesin, Germanin (Bayer 205), Calcium Sandoz, Jodisan, Ephetonin. A. MAYRHOFER.

Beiträge zum Nachweis organischer Verbindungen. Von L. ROSENTHALER. *Pharmaz. Zeitung*, **75**, *S. 273, und* **75**, *S. 650 (1930).*

Zur Unterscheidung von α- und β-Naphthol versetzt man einen Tropfen der gesättigten Lösung auf den Objektträger mit einem Körnchen festem Mercuriacetat. Bei β-Naphthol beobachtet man unter dem Mikroskop Bildung von Nadeln, die zu Sternen, Büscheln und anderen Aggregaten vereinigt sind, bei Verwendung von α-Naphthol erhält man gelbe Körnchen.

In der zweiten Mitteilung werden mikrochemische Reaktionen von folgenden Präparaten beschrieben.

Diocain (Ciba): Es entstehen mit Ammoniak zuerst Tröpfchen, dann Rauten und Blättchen der freien Base; mit Natriumchlorid Spieße, Platten meist in Sternen usw.; mit Kaliumbromid zuerst amorphe Niederschläge, daraus langsam Spieße, bandartige Individuen, Drusen usw.; mit Ammonrhodanid langsam Drusen mit spitzen, manchmal gekerbten Enden; mit Kaliumjodid Drusen aus schmalen oder breiten Spießen, auch Platten; mit Natriumperchlorat Büschel aus feinen, geraden oder gebogenen Nadeln und Fäden; mit Kaliumpermanganat rasche Reduktion. Mit den allgemeinen Alkaloidfällungsmitteln entstehen meist amorphe Niederschläge. Aus alkalischer Lösung ist Diocain leicht auszuäthern.

Percain (Ciba): Es entstehen mit Ammoniak zuerst amorphe Fällungen, allmählich Nadeln und verzweigte Aggregate bildende Niederschläge. Die meisten üblichen Alkaloidreagentien geben amorphe Fällungen. Kristallfällungen bilden sich mit Reineckes Salz (blumenstraußartige Gebilde); alizarinsulfosaurem Natrium (Nadelbüschel); Kaliumperjodat (Nadelbüschel); Kaliumjodid (blumenstraußartige Gebilde); Natriumnitrat (Nadeln, hauptsächlich in Sternen); Ammonrhodanid (Nadelbüschel). Kaliumpermanganat wird rasch reduziert. Percain ist aus alkalischer Lösung leicht auszuäthern.

Dial (Ciba): Aus der sodaalkalischen Lösung fällt Ammonchlorid Spieße, sechseckige Blättchen und unregelmäßige Platten. Bei der Sublimation entstehen kristallinische Beschläge, die mit Brombromkalium keine Kristallfällung geben.

Niederschläge entstehen in wässeriger Lösung mit Mercuriacetat; in alkalischer Lösung mit Quecksilberchlorid, mit Silbernitrat, mit Kupfersulfat. In ammoniakalischer Lösung gibt Thalliumsulfat keine Fällung (Unterschied von Veronal). Die sodaalkalische Lösung reduziert Permanganat. Aus saurer Lösung kann Dial ausgeäthert werden.

Elbon (Ciba): Der Zimtsäurerest wird durch Zusatz von Kaliumpermanganat als Benzaldehyd (identifiziert durch den Geruch oder als Benzaldehyd-Phenylhydrazon) nachgewiesen oder als Zimtsäure nach Kochen der Substanz mit verdünnter Natronlauge, Ansäuern und Ausäthern aus dem ätherischen Abdampfrückstande durch Sublimation gewonnen und dann in üblicher Weise (mit Kaliumpermanganat oder durch Füllung mit Mercuriacetat) identifiziert. Fällungen (bedingt durch die Harnstoffgruppe) entstehen beim Erhitzen von Elbon mit starker Salzsäure und Vanillin oder durch Zusatz von Formaldehyd nach dem Erhitzen mit Salzsäure. Löst man Elbon in hochkonzentrierter alkoholischer Kalilauge, so fallen allmählich aus der Lösung feine Nadeln in Büscheln sowie derbe Kristalle in Rauten usw. aus. Mit Formalin-Schwefelsäure erfolgt rotbraune, dann mehr braune Färbung, die Lösung der Substanz in konzentrierter Schwefelsäure wird durch Salpetersäure tieforange.

Septacrol (Ciba): Silber wird mit Kaliumdichromat, Salpetersäure mittels Nitron nachgewiesen. Nach Entfernung des Silbers durch Salzsäure oder Schwefelwasserstoff gibt die Lösung mit den allgemeinen Alkaloidreagentien amorphe Fällungen. Lösungen von Septacrol zeigen stark grüne Fluoreszenz, die auf Zusatz von Schwefelsäure verschwindet; nachfolgender Zusatz von Nitrit bewirkt in nicht zu verdünnten Lösungen bordeauxrote Färbung, Übersättigen mit Natronlauge bewirkt darin eine weiße Fällung. Beim Ausschütteln der alkalischen Lösung mit Äther zeigt der Äther eine grünliche Fluoreszenz.

Lipojodin (Ciba): Erwärmt man Lipojodin auf dem Objektträger mit gesättigter alkoholischer Kalilauge bis zum Eintritt des Schmelzens der Substanz, so entstehen bald kleine Drusen aus feinen Nadeln (Kaliumjodid). Jod kann durch Erwärmen mit konzentrierter Schwefelsäure freigemacht und in üblicher Weise nachgewiesen werden.

Atochinol (Ciba): Atochinol sublimiert leicht in Rauten usw. Der Nachweis von Allylalkohol (gewonnen durch Destillation beim Kochen mit Kalilauge) geschieht als Akrolein (Behandeln des Destillats mit Kaliumpermanganat und Schwefelsäure). Aus dem Rückstand wird nach dem Ansäuern durch Ausäthern die Phenylchinolinkarbonsäure isoliert und im Abdampfrückstand identifiziert ($S = 120^0$).

Coramin (Ciba): Nach dem Erhitzen mit rauchender Salzsäure (Ausfallen weißer, in Wasser löslicher Nadeln) wird alkalisch gemacht und destilliert. Im Destillat wird das entstandene Diäthylamin mit Acetaldehyd + wenig Nitroprussidnatrium (Blaufärbung) nachgewiesen. In saurer (salzsaurer) Lösung gibt Coramin Fällungen mit Jodjodkalium (amorph); Quecksilberchlorid (aus Nadeln bestehende Drusen); Kaliumquecksilberbromid (Nadelbüschel); Kaliumquecksilberjodid (lange Nadeln und kurze Prismen); Reineckes Salz (strauchartig verzweigte Nadeln); β-Anthrachinonmonosulfosäure (vorübergehende Trübung). Aus

weinsaurer Lösung geht nur wenig Coramin in Äther über, etwas mehr aus der mit Lauge alkalisch gemachten Flüssigkeit. A. MAYRHOFER.

Alizarinsulfosaures Natrium als Reagens auf Alkaloide. Von L. ROSENTHALER. *Apotheker-Zeitung*, **45**, *S. 638 (1930).*

Der Verfasser verwendet als Reagens das alizarinsulfosaure Natrium in gesättigter, wässeriger Lösung, wobei zuerst das Alkaloidsalz mit einem Tröpfchen Wasser gelöst und dann mit einem Tropfen des Reagens versetzt wird. Nur in wenigen Fällen wird das freie Alkaloid in verdünnter Essigsäure gelöst. Nachstehende Alkaloide wurden untersucht und dabei folgende Beobachtungen gemacht.

Akoin: Fällung amorph. Akonitin (in Essigsäure gelöst): Fällung amorph. Alypin (Hydrochlorid oder Nitrat): Fällung zuerst amorph, dann Drusen und Büschel aus Spießen. Apomorphin (Hydrochlorid): Fällung amorph. Arekolin (Hydrobromid): keine Fällung. Atropin(sulfat): zuerst Körnchen, dann aus gebogenen Nadeln bestehende Gebilde, dann Spieße. In der Konzentration 1 : 100 tritt noch langsame Kristallisation, in 1 : 200 keine sofortige Fällung ein. Berberin(sulfat): Fällung amorph. Bruzin(sulfat): Fällung amorph. Chinidin(sulfat): Fällung amorph. Chinin(hydrochlorid): Fällung amorph. Chinchonin(sulfat): Fällung amorph. Kokain(hydrochlorid): zuerst amorphe Fällung, daraus Drusen aus Nadeln, Stachelkugeln und straußartige Gebilde. Kodein(phosphat): kugelige Gebilde sowie aus feinen, gebogenen Fädchen zusammengesetzte Gebilde. Koffein: keine Fällung. Kolchizin: keine Fällung. Koniin(hydrobromid): beim Eintrocknen Sphärokristalle, daraus auch Nadeln und Nadelbüschel. Kotarnin(hydrochlorid): amorphe Fällung, daraus Nädelchen und Stäbchen vereinzelt und in verschiedenartigen Gebilden. Dionin: amorphe Fällung, daraus Kugeln wie bei Kodein. Emetin(hydrochlorid): amorphe Fällung. Ergotamin(tartrat) 1 : 200: keine Fällung. β-Eukaïn: amorphe Fällung. Eukodal: amorphe Fällung. Heroin(hydrochlorid): allmählich Kugeln, daraus faden- und federförmige Aggregate. Holokain: amorphe Fällung. Homatropin: zuerst amorphe Fällung, dann Nadelbüschel und Drusen. Hydrastin(hydrochlorid): amorphe Fällung. Hydrastinin(hydrochlorid): zuerst amorphe Fällungen, daraus Büschel, Garben, auch Sphärokristalle und breite Prismen. Hyoscyamin: amorphe Fällung. Lobelin(hydrochlorid): amorphe Fällung. Morphin(hydrochlorid): amorphe Fällung. Narcein (in Essigsäure gelöst): amorphe Fällung. Narkotin (in Essigsäure gelöst): amorphe Fällung. Nikotin (in Essigsäure gelöst): 1 : 100 keine Fällung. Novokain(hydrochlorid): Tröpfchen, nicht kristallinisch erstarrend. Papaverin(hydrochlorid): amorphe Fällung. Peronin: amorphe Fällung. Physostigmin(sulfat): zuerst amorph, dann Halbkugeln und Nadelbüschel. Pilokarpin(hydrochlorid) 1 : 50: zuerst amorphe Fällung, dann Tröpfchen, beim Antrocknen Nadelbüschel. Skopolamin(hydrobromid): amorphe Fällung. Stovain(hydrochlorid): amorphe Fällung. Strychnin(hydrochlorid): amorphe Fällung. Theobromin und Theophyllin: keine Fällung. Tropakokain(hydrochlorid): amorphe Fällung, daraus Drusen aus Nadeln. Tutokain, Veratrin (in Essigsäure gelöst) sowie Yohimbin(hydrochlorid) geben nur amorphe Fällungen.

Die Grenzkonzentrationen werden bei den einzelnen Reaktionen angegeben.

A. MAYRHOFER.

Über einen neuen, einwandfreien Nachweis von Aceton neben Acetessigsäure im Harn. Von H. KAISER und E. WETZEL. *Süddeutsche Apotheker-Zeitung*, **70**, *108 (1930)*.

Das bereits bei gelinder Wärme flüchtige Aceton wird aus Mikrobechergläsern abdestilliert und auf über die Mikrobechergläser gelegten Deckgläschen in einem Hängetropfen einer gesättigten Lösung von p-Nitrophenylhydrazin in 15%iger Essigsäure aufgefangen. Das sich im Hängetropfen bildende Aceton-p-nitrophenylhydrazon besteht, unter dem Mikroskop betrachtet, aus goldgelben, langen, meist geraden, spitzen oder abgestumpften Nadeln, die oft T- oder V-förmig aneinandergelagert sind. Zwecks Durchführung der Reaktion werden zwei bis drei Mikrobechergläschen mit je 3 cm^3 Harn beschickt, dann mit den mit dem Hängetropfen beschickten Deckgläschen bedeckt. Zur gründlichen Abdichtung werden die Deckgläschen entsprechend dem Umfange des Mikrobechers ringförmig mit einer dünnen Schicht Vaselin bestrichen. Mittels eines brückenartigen Einsatzes werden die Becherchen in ein mit Wasser von 40° gefülltes Becherglas eingehängt. Gestört werden könnte die Reaktion durch die Anwesenheit von Acetaldehyd. Das Acetaldehyd-p-nitrophenylhydrazon besteht jedoch aus meist gekrümmten, an den Enden schräg abgeschnittenen, gewöhnlich einzeln liegenden Kristallnadeln. In zweifelhaften Fällen kann der Versuch mit verdünnt essigsaurer m-Nitrophenylhydrazinlösung durchgeführt werden. Das damit entstehende Hydrazon des Acetaldehyds besteht aus tafel-, schild- oder speerspitzenförmigen Kristallen, das des Acetons aus spitzen, leicht gebogenen, nadelförmigen Kristallen. A. MAYRHOFER.

Chinizarinsulfosäure (Rufiansäure) als Alkaloidfällungsmittel. Von L. ROSENTHALER. *Pharmaz. Zentralhalle*, **71**, *S. 561 (1930)*.

Der Verfasser benützt ein Gemisch gleicher Teile der wässerigen, gesättigten Lösung der Säure und Wasser zum mikrochemischen Nachweis verschiedener Alkaloide. Es wurden folgende Alkaloide untersucht und es enstand dabei mit Aconitinitrat ein amorpher Niederschlag, Apomorphinhydrochlorid ein amorpher Niederschlag, Arekolinhydrobromid keine Fällung, Atropinsulfat Drusen aus Nadeln und aus Nadeln bestehende Massen, Berberinhydrochlorid ein amorpher Niederschlag, Bruzinsulfat Kugeln, dann Drusen und andere Aggregate, Chininhydrochlorid zuerst ein amorpher Niederschlag, dann Kugeln, Diocain ein amorpher Niederschlag, daraus Nadeln, Ephetonin (Zusatz von festem Ephetonin zum Reagens) allmählich Nadeln, Heroin Kugeln, Hydrastininhydrochlorid allmählich Drusen und Büschel feiner Nadeln, Kokainhydrochlorid zuerst Tropfen (Kugeln), daraus mitunter Drusen aus Nadeln, Kodeinphosphat ein amorpher Niederschlag, Koniin (in n/10 HCl gelöst) ein amorpher Niederschlag, Morphinhydrochlorid allmählich Kugeln, Narkotinhydrochlorid ein amorpher Niederschlag, Nikotintartrat allmählich drusige Gebilde, Novokainhydrochlorid Nadeln in Drusen oder Sternen, Panthesin zuerst ein amorpher Niederschlag, daraus Nadeln, Papaverinhydrochlorid Tropfen, Percain zuerst Tropfen, daraus drusige Gebilde, Physostigminsulfat ein amorpher Niederschlag, Pilokarpinhydrochlorid (beim Zusatz des Alkaloids zum Reagens) ein amorpher Niederschlag, Psikaintartrat zuerst Tropfen, dann Drusen, Sträuße usw. aus Nadeln, Stovain wie vorher, Strychninacetat Kugeln und drusige Gebilde aus stumpf endenden Nadeln und Stäbchen, Yohimbin

(in n/10 HCl gelöst) ein amorpher Niederschlag. Die Grenzkonzentrationen werden bei den einzelnen Reaktionen angegeben. A. MAYRHOFER.

Chinolin als mikrochemisches Reagens auf einige Schwermetalle. Von J. M. KORENMANN. *Pharmaz. Zentralhalle*, **71**, *S. 769 (1930).*

Es werden folgende Reaktionen beschrieben:

Wismutsalze: Chinolin (salzsaures) 1 Tropfen + konz. KJ-Lösung 1 Tropfen + 1 Tropfen Wismutsalzlösung, es entstehen je nach der Konzentration dunkelbraune oder gelborangefarbene Niederschläge aus Parallelogrammen, Rechtecken und Kreuzchen.

Brechweinsteinlösung + salzsaures Chinolin + KJ gibt ähnliche Kristallfällungen wie Wismutsalze.

Stannochlorid (nicht zu verdünnt, 1 : 300 bis 1 : 500) + verd. HCl + salzsaures Chinolin + KJ geben lange gelbe Nadeln und Parallelogramme.

Quecksilbersalze: 1 Tropfen Sublimatlösung + 1 Tropfen Chinolin gibt farblose Nadeln und Rosetten. Salzsaure Chinolinlösung + Sublimatlösung gibt Rhomben, Parallelogramme, Sechsecke, seltener Trapeze. Diese Reaktion ist weniger empfindlich als die erstere. Bei Gegenwart von KJ gibt salzsaures Chinolin mit Quecksilbersalzen gelbe Niederschläge, aus konzentrierten Lösungen auch Kristallfällungen.

Kadmiumsalze: Schwefelsaures oder essigsaures Kadmium + Chinolin + NaCl (ein Kriställchen) gibt Körnchen, dann Nadeln und Rosetten. Bei Gegenwart von KJ wird die Reaktion empfindlicher.

Kupfersalze: $CuSO_4$-Lösung (1 : 100 bis 1 : 200) + Chinolin gibt amorphe Niederschläge, bei Gegenwart von NaCl feine, rechteckige, schmale Nadeln. Durch Gegenwart von KJ wird die Reaktion empfindlicher. Salzsaure Chinolinlösung + + KJ + Kupfersalz gibt dunkelbraune Niederschläge, bestehend aus abgestumpften Rhomben, Achtecken, Stäbchen usw. Neutrale Cu-Salzlösung + Chinolin + konz. NH_4CNS-Lösung gibt einen grünen Niederschlag, bestehend aus kleinen Rechtecken, Parallelogrammen und Rosetten.

Zinksalze: Salzsaures Chinolin + konz. KBr-Lösung + Zinksalz geben ziemlich große, oft abgestumpfte Rhomben, Parallelogramme und andere Kristalle.

Bleisalze: Salzsaures Chinolin + konz. KJ-Lösung + Bleisalzlösung gibt dünne, X-artige Kristalle und Rosetten und schmale Parallelogramme.

Mit dem Gemisch Chinolin (1 Teil) + gesättigte Rhodanammonlösung + soviel verdünnte Salpetersäure, als zur Auflösung des Chinolins notwendig ist (Reagens von A. MARTINI + S. SCHAMIS), geben Ferrisalze rote Kristalle in unterschiedlicher Form und Größe, Zinksalze werden als farblose Rhomben, Parallelogramme und Sechsecke gefällt, Kobaltsalze bilden neben anderem hellblaue Prismen, Würfel usw., Kadmiumsalze stachelige Kugeln. Die Ausscheidungen von Rhodanchinolin aus dem Reagens in Form von Sechsecken beeinflussen die obigen Reaktionen ungünstig. Bei den verschiedenen Reaktionen werden noch die Empfindlichkeiten angegeben. A. MAYRHOFER.

Über die mikrochemische Erkennung von Barbitursäureverbindungen. Von L. VAN ITALLIE und A. J. STEENHAUER. *Pharmac. Weekbl.*, **67**, *977 (1930).*

In Ergänzung zu den seinerzeitigen Mitteilungen (Pharmac. Weekbl., **56**, 1112, [1919]) werden von den Verfassern folgende Reaktionen mitgeteilt. Die zu untersuchenden Substanzen werden zu diesem Zwecke in möglichst wenig (ein Überschuß von Lauge ist zu vermeiden) 2%iger Kalilauge gelöst, die Abscheidung der Barbitursäureverbindung aus dieser Lösung wird dann durch folgende Reagenzien bewirkt.

1. Abscheidung mit Essigsäure: Die Lösung in Kalilauge wird durch Zusatz von Essigsäure deutlich sauer gemacht. Bei Proponal, Dial, Luminal entstehen sofort oder nach kurzer Zeit Kristalle, bei Veronal, Allonal, Sonéryl, Phanodorm, Sandoptal tritt vor der Abscheidung der Kristalle Tröpfchenbildung ein.

2. Abscheidung mit Ammoniumphosphat.

In die 2%ige Lösung in Kalilauge wird ein Kriställchen Ammoniumphosphat, eventuell ein anderes Ammoniumsalz gebracht. Zur Bereitung der Lösung ist Kalilauge der Verwendung von Natronlauge vorzuziehen, um die Ausscheidung von Natriumphosphatkristallen zu vermeiden. Sofort oder fast unmittelbar entstehen Kristalle bei Veronal, Proponal, Dial, Luminal, Rutonal und Sandoptal. Tröpfchenbildung mit darauffolgender Kristallbildung tritt ein bei Allonal, Sonéryl und Phanodorm.

3. Reaktion mit Thalliumacetat.

In die 2%ige Lösung in Kalilauge gibt man festes Thalliumacetat. Mit der Lösung des Reagens tritt Abscheidung von Kristallen ein bei Veronal, Proponal, Allonal und Phanodorm.

4. Reaktion mit Silbernitrat.

Als Reagens wird eine 5%ige Silbernitratlösung verwendet, die mit der eben zur Lösung des beim Ammoniakzusatz entstandenen Niederschlages notwendigen Menge Ammoniak versetzt ist. Nur Veronal und Dial geben damit brauchbare Reaktionen.

5. Reaktion mit ammoniakalischer Kupferlösung.

Zur Lösung in Kalilauge wird eine kleine Menge Kupferacetat und dann so viel Ammoniak hinzugefügt, bis der anfangs entstandene Niederschlag wieder gelöst ist. Schöner verläuft die Reaktion, wenn die feste Substanz in ein Tröpfchen Kupferoxydammoniak (SCHWEITZER's Reagens) gebracht wird. Bei Dial, Rutonal und Sandoptal entstehen schöne, amethystfarbige Kristalle.

6. Reaktion mit gesättigtem Bromwasser.

Fast bei allen untersuchten Verbindungen entstehen meist unmittelbar amorphe oder körnige Niederschläge. Nach einiger Zeit oder durch Kratzen tritt Kristallbildung ein bei Proponal, Luminal, Rutonal und Phanodorm. Kein Niederschlag entsteht bei Veronal.

7. Reaktion mit Barytwasser.

Beim Eintragen der festen Substanz in ein Tröpfchen des Reagens bilden sich bei Dial auf den ursprünglichen Kristallen Prismen und Nadeln, so daß erstere damit völlig bedeckt erscheinen.

Die beigefügte Tabelle kann zur Differentialdiagnose bei der Identifizierung der einzelnen Verbindungen verwendet werden.

Von einzelnen Kristallfällungen finden sich Abbildungen im Original.

A. MAYRHOFER.

Untersuchung zur Reaktion von Spacu. — Volumetrische Bestimmung des Kupfers auf Grund dieser Reaktion. Von M. J. Golse. *Bull. Soc. chim. France*, **49—50**, *84—100 (1931)*.

Spacu (Ztschr. analyt. Chem., 71, 185 [1927]) hat zur gewichtsanalytischen Bestimmung des Cu die Abscheidung desselben als $[Cu(C_5H_5N)_2]$ $(SCN)_2$, Kupfer-Dipyridin-Rhodanid, empfohlen. Verfasser bespricht zunächst die von L. Cuny (Journ. Chim. Phys., **30**, 240 [1924]) vorgeschlagene maßanalytische Methode; L. Cuny fällt das Cu mit überschüssiger KSCN-Lösung von bekannter Konzentration aus und bestimmt das im Filtrat befindliche unverbrauchte KSCN durch Titration mit $KMnO_4$ in schwefelsaurer Lösung.

Golse verwendet zwei andere Methoden zur Bestimmung des überschüssigen KSCN. Wenn größere Mengen Cu vorliegen, titriert Golse das im Filtrat befindliche überschüssige KSCN argentometrisch. Zwecks Bestimmung kleiner Cu-Mengen oxydiert der Verfasser das überschüssige KSCN mit NaOBr-Lösung von bekanntem Gehalt, gemäß: $KSCN + 4\,NaOBr + 2\,NaOH = Na_2SO_4 + CNOK + 4\,NaBr + H_2O$; das überschüssige NaOBr wird jodometrisch titriert. Da zur Bildung des Cu-Salzes von Spacu 2 Moleküle KSCN pro Atom Cu erforderlich sind, ein Molekül KSCN auf Grund der angegebenen Gleichung 4 NaOBr erfordert und ein Molekül NaOBr 2 Jodatome in Freiheit setzt, entsprechen einem Cu-Atom **16** $Na_2S_2O_3$. Bei der Ausführung dieses Verfahrens ist folgendes zu beachten: Pyridin wird durch NaOBr teilweise oxydiert und muß daher durch Einleiten von Wasserdampf abgetrieben werden; durch die geringsten Spuren Cu, die nicht mitausgefällt wurden, wird NaOBr katalytisch zersetzt; durch Zugabe von KJ wird diese Zersetzung verhindert. Der Verfasser erhält bei Cu-Mengen, die zwischen 0,005 g und 0,07 g schwanken, sehr gut stimmende Resultate.

A. Bondi.

Potentiometric Microanalysis. By M. Matsui and T. Noda. *Chem. Ind. Japan.*, **33**, 1421 *(1930)*.

The present paper describes an application of photoelectric cell to the colorimetric micro-analysis. The photoelectric cell used was a Cs-cell filled with argon. After transmitting through the layer (12 cm) of a solution contained in a square vessel, the light from an incandescent lamp illuminates the photoelectric cell and the current thus produced was measured by a pointer galvanometer (sensibility, $5{,}8 \cdot 10^{-8}$ A). At first, the photoelectric current (I_0) of distilled water, filled in the vessel, was measured, then the solution was filled in the vessel and the corresponding current (I) was read as before. As the quantitative relation exists between log I/I_0 and the concentration of the solution, the latter may thus be determined. For instance, the photoelectric current reduces to 73,5% of the initial current (I_0), when the concentration of a solution of tetra-ammine copper sulphate is 0,00063 N. The rate of change of the current is 2,1 scale units of the galvanometer deflection per 10^{-4} N. change of solution having the strength of about 0,0008 N. The accuracy of this determination is about 5% or less. The thicker the layer of the liquid, the more dilute solution

may be used. For the purpose of the more sensitive determination, light filter should be applied and the suitable kinds of photo-cell should also be selected.

TSUCHIDA.

Microchemical Determination of Glycogen and Glucose in Splanchnic Organs and Blood. By S. NAKAMURA. *Keio-Igaku*, **9**, 1641 *(1929)*.

To 0,3—1 g of tisse is added 1 c. c. papain solution. It is heated for 10—15 min. in hot water and diluted to 50 c. c. with water. First. 10 c. c. of the solution is made weakly alkaline and is treated after Folin and Wu. The solution, now free from proteins, is subjected to the determination of glucose by methods of HAGENDORN and JENSEN, and NAKAMURA and OYAMA. Another 10 c. c. of the tissue solution is heated at 120° in a closed tube with 0,4 c. c. of 5% sulphuric acid for 30 min. After cooling, it is neutralised. Then proteins are removed, and the glucose in the filtrate is determined. The quantity of glucose, multiplised by 0,927, shows the quantity of glycogen.

In the analysis of blood, the method is much simpler, as the treatment of dissolution is not necessary. In the preliminary experiments, the author examined the condition of saccharification of glycogen and the changes which glucose undergoes by the treatment with acid.

TSUCHIDA.

Microchemical Determination of Magnesium in Blood Without Removing Calcium. By S. YOSHIMATSU. *Tohoku-Journ. of Exper. Med.*, **14**, 29 *(1929)*.

1 c. c. of blood is mixed with 7 c. c. of water, 1 c. c. of 1% sodium tungstate solution and 1 c. c. of 2/3 N. H_2SO_4. The solid matter produced is deposited by a centrifuge. To 5 c. c. of the supernatant liquid is added 0.3—0.5 g. NH_4Cl powder. The solution is boiled in addition of 7 drops of aqueous ammonia solution (d = 0,96) and 7 drops of 2% alcoholic solution of oxyquinoline. It is kept warm in hot water for 10 min., adding 1 drop of aqueous ammonia each 3 min. The precipitates are separated hot by a centrifugal machine, washed thrice with 2 c. c. of 5% ammoniacal ammonium acetate solution and dissolved in 1 N. HCl. The solution is mixed with 5 c. c. of 25% Na_2CO_3 solution and 1 c. c. of Folin-Denis' phenol reagent and warmed for 30 sec. After cooling, the solution is compared with standard solutions colorimetrically.

TSUCHIDA.

Microchemical Determination of Phenols in Blood. By Y. ASADA. *Tohoku-Journ. of Exper. Med.*, **15**, 363 *(1930)*.

The author revised FOLIN-DENIS' method of phenol estimation, so as to make it applicable to the microanalysis. 1.5 c. c. of water, 0.2 c. c. of 10% Na-tungstate solution and 0,2 c. c. of 2/3 N. H_2SO_4 are mixed, and 0,2 c. c. of blood is added. After 10—15 min. 0.5 c. c. of Ag-lactate solution (5% Ag-lactate in 5% lactic acid) and 0.2 c. c. of 10% NaCl solution are added. Solid matters thus produced are deposited centrifugally. To 2 c. c. of the supernatant liquid are added 0.5 c. c. of BELL's phenol reagent and 2 c. c. of 2% Na_2CO_3 solution.

The mixture is heated in hot water for several min. After cooling it is subjected to colorimetrical determination. TSUCHIDA.

Microanalysis of Zinc by Means of a Polarograph. Part I. Quantity of Zinc in Living Bodies. By S. HATTORI. *Ann. Rep. of Centr. Hosp. of Kurashiki*, **4**, 1 *(1930)*.

The author estimated Zn in splanchnic organs of cattles and rabbits and human splanchnic organs and humours by means of a polarograph. Animal splanchnic organs especially in livers: 0,03—0,09‰ Zn; human serum, cerebrospinal liquid and intestinal organs: 0,05—0,1‰ Zn; human liver and kidney: 0,2—0,3‰ Zn; human milk, urine & c: 0.02—0,04‰ Zn.

TSUCHIDA.

A new Colorimetric method of Ca-estimation in Blood. By S. YOSHIMATSU. *Tohoku-Journ. of Exper. Med.*, **15**, 355 *(1930)*.

0,1 c. c. of blood is mixed with 0,7 c. c. of water. 0,1 c. c. of 10% Na-tungstate solution is added and then 0,1 c. c. of 2/3 N. H_2SO_4. After 15 min. the mixture is filtered through a small glass filter and the residue is washed thrice with 0,3 c. c. of water; the washing being united with the filtrate. To the filtrate are added 0,3 c. c. of 33% solution of Rochelle salt and 0,5 c. c. of 1 N. NaOH solution and then 0,3 c. c. of 5% alcoholic solution of oxyquinoline drop by drop. Calcium compound of oxyquinoline thus produced is separated by centrifuge and washed 4 times with 1 c. c. of alkaline solution of Rochelle salt. 1 c. c. of ammoniacal NH_4Cl solution (1 L. of 5% NH_4Cl soln. + + 34 c. c. aqueous amm. soln. of d = 0,9) and the mixture is boiled for 5 min., adding 1 drop of aqueous ammonia twice during the heating. The product is filtered through a glass filter, washed twice with 0,5 c. c. of water and then dissolved in 0,5 c. c. of 0,01 N. HCl. To the soln. are added 1,2 c. c. of 20% Na_2CO_3 soln. and 1 c. c. of BELL's phenol reagent and warmed in hot water for 5 min. After cooling it is sujected to colorimetry. TSUCHIDA.

Bestimmung kleiner Mengen Wasserstoff und Sauerstoff in aktiver Kohle. Von A. STOCK, H. LUX und J. W. R. RAYNER. *Ztschr. anorgan. Chem.*, **195**, *158 (1931)*. (Chem. Institut der Technischen Hochschule Karlsruhe.)

Die aktive Kohle wird zuerst durch Erhitzen auf 950° im Vakuum entgast und dann mit einem gemessenen Volumen Sauerstoff (V_1 cm³) verbrannt. Das dabei entstandene Wasser wird kondensiert und gewogen, woraus sich der H-Gehalt ergibt. Das Restgas besteht aus CO_2 und dem unverbrauchten O_2. Man fügt nun dem Restgas das Volumen des im H_2O enthaltenen Sauerstoffs hinzu (V_2 cm³) und erhält aus der Differenz $V_2 - V_1$ den O-Gehalt der aktiven Kohle. REIF.

Spektralanalytische Untersuchungen zur chemischen Mikroanalyse. X. Mitteilung. Die Verwendung von Hochfrequenz zur Funkenerzeugung; der quantitative Nachweis kleinster Quecksilbermengen. Von W. GERLACH und E.

SCHWEITZER. *Ztschr. anorgan. Chem.*, **195**, 255 *(1931)*. (München, Phys. Inst. der Univ., und Frankfurt a. M.-Höchst, Physik. Lab. der I. G. Farbenindustrie.)

Zur Funkenerzeugung wird zum erstenmal eine Hochfrequenzfunkenstrecke verwendet, deren Anordnung im Original näher beschrieben ist. Die Hochfrequenzentladung liefert Spektren, deren Charakter mehr „bogenähnlich" ist, das heißt die Funkenlinien sind stark unterdrückt. Der spektralanalytische Nachweis von Hg kann auf zweierlei Art durchgeführt werden.

a) Hg-Nachweis nach chemischer Anreicherung:

Aus der Probelösung wird das Hg nach Zusatz von $CuSO_4$ mit H_2S ausgefällt und durch ein gewöhnliches Filter filtriert. Das Filter mit dem Rückstand von CuS und HgS, der nur eine Filterfläche von 3 bis 4 cm^2 bedecken soll, wird auf eine Glasplatte ausgebreitet und mit etwas Wasser aufgeklebt. Dann befeuchtet man es mittels eines Glasstabes mit verdünntem Königswasser: es bilden sich Chloride. Nach dem Eintrocknen wiederholt man das Abtupfen mit Königswasser. Das feuchte Filter auf der Glasplatte bringt man nun in die Funkenstrecke und läßt es durch die ganze Fläche abfunken, bis alles Salz weg ist. Die Spektra werden photographisch aufgenommen. Die Auswertung der Platten erfolgt nach dem Vergleichsverfahren. Es wird eine Eichplatte hergestellt, indem die Spektra bekannter Mischungen CuS + HgS, welche in die Filter eingerieben werden, photographiert werden. Man vergleicht auf der Analysenplatte und Eichplatte die Hg-Resonanzlinie 2537 mit den benachbarten Cu-Linien. Nach dieser Methode lassen sich mit dem Spektrographen noch mindestens 4 γ Hg nachweisen.

b) Hg-Nachweis nach elektrolytischer Abscheidung:

Noch höher ist die Empfindlichkeit durch elektrolytische Abscheidung des Hg aus der Probelösung auf eine Zinnfolie. Nach Beendigung der Elektrolyse wird die Folie auf eine dünne Glasplatte gelegt und in der Hochfrequenzfunkenstrecke in ähnlicher Weise wie oben abgefunkt. Zur quantitativen Auswertung des aufgenommenen Spektrogramms stellt man sich eine Reihe Eichsubstanzen her in Form von Sn-Hg-Legierungen mit abgestuftem Hg-Gehalt (von 1% bis 0,001% Hg) und vergleicht deren Spektra mit dem Analysenspektrogramm in bezug auf die Hg-Linie 2537 und die benachbarten Sn-Linien. Es lassen sich noch 0,002% Hg in Sn, bezw. $7{,}10^{-8}$ g Hg nachweisen. REIF.

Zum Nachweis von Germanium. Von W. GEILMANN und K. BRÜNGER. *Ztschr. anorgan. Chem.*, **196**, *312 (1931)*. (Institut f. anorg. Chemie der Technischen Hochschule Hannover.)

Das Prinzip der Methode besteht darin, daß das Ge durch Destillation von den Begleitmetallen getrennt und im Destillat nach einer Konzentrationsfällung mit H_2S spektrographisch nachgewiesen wird. 2 bis 3 γ Ge sind neben Fremdstoffen noch sicher nachweisbar. Die Probelösung wird in einen Destillationskolben übergeführt und unter Kühlung mit so viel konz. HCl versetzt, daß die Lösung 3 bis 4 n salzsauer ist. Man leitet Chlor ein und destilliert in schwachem Strom bei niederer Temperatur. Als Vorlage dient ein Zentrifugenglas, das 1 cm^3 3 n-Salzsäure enthält und in das Ablaufrohr des Kühlers eintaucht. Es wird außen durch schmelzendes Eis gekühlt. Zur Sicherheit schließt man eine zweite De-

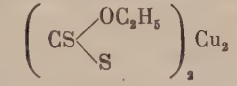
stillation mit derselben Flüssigkeit an. Durch diese Destillation mit HCl im Chlorstrom läßt sich Ge leicht von den störenden Elementen As und Se trennen. Die beiden Destillate werden in der Kälte mit Schwefelwasserstoff gesättigt und verschlossen über Nacht stehengelassen. Am nächsten Morgen wird nochmals ein rascher H_2S-Strom eingeleitet und gleichzeitig ein wenig Na_2SO_3-Lösung zugesetzt, so daß durch den sich abscheidenden Schwefel das kolloide Germaniumsulfid mitgerissen wird. Nachher wird zentrifugiert, die überstehende Lösung mit einer Kapillarpipette entfernt, der Niederschlag von GeS_2 mit 50 mm^3 1 n-KOH unter Erwärmen gelöst, auf 25 mm^3 eingeengt und das Funkenspektrum zwischen Achesongraphitelektroden im Quarzspektrographen aufgenommen. Das Verfahren läßt sich in der Mineralanalyse gut anwenden. REIF.

Beiträge zum Nachweis von Schwefelkohlenstoff. Von F. FEIGL und K. WEISSELBERG. *Ztschr. analyt. Chem.*, 83, *93 (1931).* (Aus dem II. Chem. Universitätsinstitut Wien.)

Verfasser beschreiben die empfindlichsten Nachweismethoden für CS_2 und geben dabei die Erfassungsgrenze und die Grenzkonzentrationen an. Im Anschluß daran wird über zwei neue Methoden berichtet.

1. Nachweis mittels alkoholischer Kalilauge und Kupfersalz (Xanthogenatreaktion) nach A. VOGEL, Ann. d. Chem., 86, 370 (1853).

Zu 1 cm^3 der Probelösung fügt man einen Überschuß von alkoholischer Kalilauge (30 g KOH in 100 cm^3 C_2H_5OH) und erwärmt schwach. Hierauf setzt man einen Tropfen einer 1%igen $CuSO_4$-Lösung zu und säuert mit CH_3COOH schwach an. Es erfolgt bei Anwesenheit von CS_2 ein Farbenumschlag von Blau nach Gelb durch Bildung eines gelben Niederschlages, bezw. einer gelben Färbung von Kuproxanthogenat:



Erfassungsgrenze: 11 γ CS_2,

Grenzkonzentration: 1 : 90.000.

2. Nachweis mittels Bleinitrat und Kalilauge nach A. VOGEL (a. a. O.).

Zu einer siedenden Lösung von $Pb(NO_3)_2$ in 2 n-KOH wird 1 cm^3 der Probelösung zugefügt. Das Auftreten eines Niederschlages oder einer Färbung von PbS (aus dem intermediär entstehenden Bleitrithiokarbonat $PbCS_3$) zeigt die Anwesenheit von CS_2 an.

Erfassungsgrenze: 60 γ CS_2.

Grenzkonzentration: 1 : 17.000.

Der Nachweis mit Bleiseife und alkoholischer Kalilauge nach P. SACCARDI, Giorn. di Chim. ind. ed. appl., 8, 11 und 315 (1926), ist nur eine Modifikation der obigen Methode und bietet keine Vorteile.

3. Nachweis mit Triäthylphosphin nach A. W. HOFMANN, Ber. Deutsch. Chem. Ges., **13**, 1732 (1880).

Eine ätherische Lösung von Triäthylphosphin gibt mit CS_2 eine rote, kristallinische Additionsverbindung $(C_2H_5)_3P \cdot CS_2$.

Erfassungsgrenze: 250 γ CS_2.

Grenzkonzentration: 1 : 4000.

4. Nachweis mit Phenylhydrazin nach C. LIEBERMANN und A. SEYEWETZ, Ber. Deutsch. Chem. Ges., **24**, 788 (1891).

Auf Zusatz von Phenylhydrazin zu der mit Äther versetzten Probelösung entsteht ein farbloser Niederschlag von phenylsulfokarbazinsaurem Phenylhydrazin $(C_6H_5N_2H_3)_2 . CS_2$.

Erfassungsgrenze: 4000 γ CS_2.

Grenzkonzentration: 1 : 250.

5. Nachweis mit Azetylazetonthallium nach E. KUROWSKI, Ber. Deutsch. Chem. Ges., **43**, 1078 (1910).

Zu 1 cm^3 der Probelösung fügt man einige Tropfen der alkoholischen Reagenslösung, dann zwei Tropfen NaOH und erhitzt zum Sieden, worauf ein braunschwarzer Niederschlag, bezw. eine ebensolche Färbung entsteht. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um die Bildung von Thalliumsulfid aus der von F. FEIGL und E. BÄCKER, Monatsh. Chem., **49**, 404 (1928), beschriebenen Additionsverbindung des Thalliumdienolats.

Erfassungsgrenze: 50 γ CS_2.

Grenzkonzentration: 1 : 20.000.

6. Nachweis mit Natriumazid und Jod nach F. FEIGL und E. CHARGAFF. Ztschr. analyt. Chem., **74**, 376 (1928).

Durch Zusatz von CS_2 zu einer Natriumazid-Jodlösung wird eine lebhafte Stickstoffentwicklung ausgelöst:

$2NaN_3 + J_2 = 2NaJ + 3N_2$.

Die katalytische Wirkung des CS_2 beruht auf der intermediären Bildung eines Natriumsalzes der Azidodithiokohlensäure $CS(SNa)N_3$:

$2NaN_3 + 2CS_2 = 2CS(SNa)N_3$.

$2CS(SNa)N_3 + J_2 = 2CS_2 + 2NaJ + 3N_2$.

Erfassungsgrenze: 20 γ CS_2 (bezw. nach 20 Minuten Wartezeit 2 γ CS_2).

Grenzkonzentration: 1 : 50.000 (bezw. 1 : 500.000).

7. Nachweis mit dem ILOSVAY'schen Reagens nach J. A. PIERCE, Ind. Eng. Chem. Analytical Edition, **1**, 227 (1929).

Die Probelösung wird mit dem Reagens (Kupfersulfat, Ammoniak und Hydroxylaminchlorhydrat) versetzt und erwärmt: es entsteht ein braungelber Niederschlag, der aus einem Gemisch von CuS und einem noch unsicher bekannten Reaktionsprodukt besteht.

Erfassungsgrenze: 30 γ CS_2.

Grenzkonzentration: 1 : 33.000.

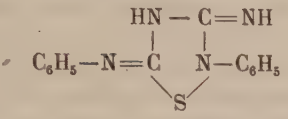
Als höchstempfindliche Methoden werden nun zwei neue beschrieben:

8. Nachweis mittels der HECTOR'schen Base nach F. FEIGL und E. KLEIN (Dissertation, Wien 1927)

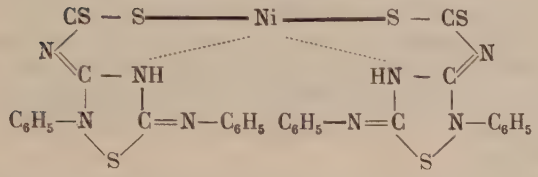
Die Probelösung wird in einer Jenaer Glaseprouvette mit einigen Kristallen Nickelazetat und HECTOR'scher Base, eventuell noch mit einigen Tropfen Wasser versetzt, die Eprouvette mit einem Kautschukstöpsel verschlossen und in ein Wasserbad versenkt. Nach einigen Minuten läßt man erkalten und beobachtet eine rote Fällung, bezw. eine Rosafärbung, herrührend von einem Nickelsalz einer Carbothiosäure aus der HECTOR'schen Base und Schwefelkohlenstoff: $C_{30}H_{22}N_8S_6Ni$.

Strukturformeln:

HECTOR'sche Base



Nickelkomplex der Carbothiosäure



Erfassungsgrenze: 0,5 γ CS_2.

Grenzkonzentration: 1 : 2,000.000.

9. Nachweis mit Formaldehyd und Plumbit nach F. FEIGL und K. WEISSELBERG (Dissertation, Wien 1930).

Auf einer Tüpfelplatte wird ein Tropfen der Probelösung mit 2 bis 3 Tropfen einer Formalinlösung und mit einem Tropfen einer alkalischen Plumbitlösung versetzt und verrührt. Es entsteht eine Braunschwarzfärbung, bezw. ein Niederschlag von PbS, herrührend von der Zersetzung des zuerst gebildeten Bleitrithiokarbonats:

$3CS_2 + 6KOH = 2K_2CS_3 + K_2CO_3 + 3H_2O$; $PbCS_3 = PbS + CS_2$.

Anwesender Schwefelwasserstoff muß vor Anstellung der Reaktion beseitigt werden. Dies geschieht dadurch, daß man zum Probetropfen auf der Tüpfelplatte Bromwasser bis zur Gelbfärbung zufügt und den Überschuß des Oxydationsmittels durch Zusatz eines Kriställchens Sulfit beseitigt.

Der Nachweis in einer Proberöhre statt auf einer Tüpfelplatte ist noch empfindlicher.

Erfassungsgrenze: 3,5 γ (Tüpfelreaktion), bezw. 2 γ CS_2 (Eprouvettenreaktion).

Grenzkonzentration: 1 : 14.200, bezw. 1 : 500.000. REIF.

Über die titrimetrische Bestimmung sehr kleiner Mengen von Ammoniak. Mit besonderer Rücksicht auf Meer- und Süßwasser. Von S. KÜHNEL-HAGEN. *Ztschr. analyt. Chem.*, **83**, *164 (1931)*. (Aus dem chem. Labor. A der Technischen Hochschule Kopenhagen.)

Verfasser beschreibt eine besondere Kjeldahl-Apparatur zur Destillation des NH_3 unter Angabe der genauen Arbeitsbedingungen. Aus dem Destillat wird CO_2 durch Durchlüften mit gereinigtem N_2 entfernt und die in der Vorlage noch vorhandene überschüssige 1/140 n-HCl mit 1/140 n-NaOH titriert. REIF.

Systematischer Gang der qualitativen Analyse mit kleinen Mengen Kationen. Von A. SCHEINKMANN. *Ztschr. analyt. Chem.*, **83**, *176 (1931)*. (Aus dem Laboratorium für analytische Chemie des Pharmazeutischen Instituts Winniza.)

Vorteilhaft werden beim Arbeiten mit geringen Substanzmengen kleine Proberöhrchen von 5 bis 7 mm Durchmesser, kleine Trichter von 3 bis 4 cm Durchmesser und Kölbchen von 50 bis 60 cm^3 Inhalt gebraucht. Empfehlenswert ist die Anwendung einer Spritzflasche, die mit einem Gummiballon versehen ist, wodurch das Blasen mit dem Mund entfällt. Zur schnellen Filtration eignet sich eine Vorrichtung, bestehend aus einer weithalsigen Flasche mit einem dreifach durchbohrten Gummistopfen. In die eine Bohrung führt ein Trichter, der in ein Auffangröhrchen mündet, die zweite Bohrung ist mit einer Gummiklappe verschließbar und bildet die Auslaßöffnung für die Luft, und in der dritten Öffnung steckt ein Rohr, das mit einem Gummiballon verbunden ist, der zum Saugen dient. Steht eine Wasserstrahlpumpe zur Verfügung, so sind der Ballon und die zweite Bohrung entbehrlich. Zum Auswaschen von Kolben dient ein im Original dargestellter Apparat, der hauptsächlich aus zwei Flaschen besteht, von denen die eine in Verbindung mit einem Gummiballon steht, während die andere einen Trichter aufgesetzt hat.

Systematischer Gang.

Für ein festes Gemisch benötigt man 0,1 bis 0,15 g zur Gesamtuntersuchung. Für den Nachweis jedes Kations sind 1 bis 5 Tropfen der Probelösung erforderlich.

I. Gruppe. Zur Probelösung fügt man tropfenweise HCl, bis kein Niederschlag mehr entsteht, filtriert und wäscht mit HCl (1 : 10) aus.

Pb. Der Niederschlag auf dem Filter wird mit 3 cm^3 einer 5%igen KNO_3-Lösung übergossen und die abfließende Flüssigkeit einige Male wieder auf das Filter gebracht. 5 bis 8 Tropfen des Filtrats werden mit einem Tropfen K_2CrO_7- oder KJ-Lösung versetzt, ein gelber Niederschlag zeigt Pb an.

Ag. Der Filterrückstand wird mit Wasser gewaschen und mit 2 bis 3 cm^3 einer 2 n-Lösung von NH_3 behandelt. 5 bis 8 Tropfen des Filtrats werden mit HNO_3 angesäuert: weiße Trübung zeigt Ag an. Oder Reaktion mit KJ: gelbe Trübung.

Hg. Eine Schwärzung des Rückstandes auf dem Filter beim Behandeln mit NH_3 beweist die Anwesenheit von Hg. Identifizierung durch Lösen mit NH_4Cl-Lösung und Reaktion mit $SnCl_2$: graue Trübung von Hg.

II. Gruppe. Das Filtrat wird erwärmt, mit der drei- bis vierfachen Menge frischen H_2S-aq versetzt, nachher filtriert und mit 1%iger NH_4NO_3-Lösung gewaschen. Der Sulfidniederschlag wird in einem Porzellanschälchen mit KOH erwärmt, filtriert und gewaschen. Das Filtrat enthält die Ionen der 2. Untergruppe, der Filterrückstand die der 1. Untergruppe.

1. Untergruppe. Der Rückstand wird in einer Schale mit 2 bis 3 cm^3 2 n-HCl übergossen, tropfenweise mit 10 bis 12 Tropfen einer 3%igen H_2O_2-Lösung versetzt und erwärmt. Nach Filtration gibt man zum Filtrat NH_3 bis zur alkalischen Reaktion: in Lösung gehen Cd und Cu, im Rückstand bleiben $Pb(OH)_2$, $HgClNH_2$ und BiOCl.

Cu. Blaufärbung des Filtrats. Reaktion mit $K_4Fe(CN)_6$: rotbraune Trübung.

Cd. 5 bis 8 Tropfen Filtrat (bei Gegenwart von Cu mit KCN entfärbt) werden mit H_2S-aq versetzt: gelber Niederschlag.

Hg. Niederschlag auf dem Filter mit NH_4Cl-Lösung behandelt, im Filtrat Reaktion mit $SnCl_2$.

Pb. Rückstand mit heißer NH_4Cl-Lösung gewaschen, in heißer KOH gelöst zu Plumbit; Reaktion mit $K_2Cr_2O_7$ in essigsaurer Lösung.

Bi. Niederschlag in HCl gelöst, mit frischer Na- oder K-Stannitlösung versetzt: schwarzer Niederschlag von Bi, oder mit 5%iger Hexamethylentetramin-Lösung versetzt: weißer kristalliner Niederschlag.

2. Untergruppe. Das Filtrat wird mit Essigsäure angesäuert, die ausfallenden Sulfide gewaschen und filtriert.

As. Niederschlag wird mit einer Lösung von gleichen Raumteilen n-NH_3 und 2 n-NH_4Cl behandelt und filtriert. Das essigsaure Filtrat zeigt einen gelben Niederschlag.

Sb. Der Rückstand nach dem Abfiltrieren der As-Lösung wird ausgewaschen, in 20%iger HCl gelöst und ein Tropfen des Filtrats auf ein blankes Cu-Blech gebracht: schwarzer Fleck.

Sn. 10 bis 12 Tropfen Filtrat werden mit Eisenpulver erwärmt und filtriert. Zusatz von 2 bis 3 Tropfen $HgCl_2$-Lösung zum Filtrat: Trübung deutet auf anwesendes Sn.

III. Gruppe. Das Filtrat von der zweiten Gruppe wird mit NH_4OH und $(NH_4)_2S$ versetzt und der Niederschlag filtriert. Bei Braunfärbung des Filtrats durch kolloides NiS setzt man Ammonazetat zu, um das NiS abzuscheiden und fügt dieses zum Hauptniederschlag. Dieser wird mit kalter 2 n-HCl behandelt, wodurch Fe, Zn, Mn, Cr und Al als Chloride in Lösung gehen; im Rückstand bleiben NiS und CoS. Man filtriert, übergießt mit 2 n-CH_3COOH und kocht mit 3%igem H_2O_2. Die Sulfide lösen sich, zurück bleibt nur Schwefel.

Co. 8 bis 10 Tropfen Filtrat werden mit KCl und einer gesättigten Lösung von KNO_2 versetzt: gelber Niederschlag von $K_3[Co(NO_2)_6]$. Oder Reaktion mit NH_4CNS: Blaufärbung.

Ni. Reaktion mit Dimethylglyoxim.

Das Filtrat wird mit H_2O_2 oxydiert, mit $NH_3 + NH_4Cl$ gefällt, der Niederschlag von $Fe(OH)_3$, $Cr(OH)_3$ und $Al(OH)_3$ wird filtriert und mit NaOH und H_2O_2 umgesetzt: Na_2CrO_4 und Na_3AlO_3 gehen in Lösung; im ersten Filtrat sind $MnCl_2$ und $Zn(NH_3)_6(OH)_2$ gelöst.

Fe. Die Lösung des $Fe(OH)_3$ in HCl wird mit NH_4CNS geprüft.

Cr. Reaktion auf $PbCrO_4$ oder Ag_2CrO_4 oder mit H_2O_2.

Al. Ein Teil des Filtrats wird mit NH_4Cl gekocht: Niederschlag mit HCl gelöst und mit alkoholischer Morinlösung auf Fluoreszenz geprüft oder mit Alizarinlösung: Rotfärbung nach Ansäuern mit Essigsäure zeigt Al an.

Mn. Filtrat mit NaOH und H_2O_2 gefällt: MnO_2 mit H_2SO_4 und PbO_2 erhitzt: Rotviolettfärbung. Ein Teil des Niederschlages mit $Na_2CO_3 + KNO_3$ geschmolzen: Grünfärbung.

Zn. Filtrat mit Essigsäure angesäuert, mit H_2S-aq versetzt: weiße Trübung; Niederschlag in HCl gelöst, mit NH_4OH übersättigt und mit alkoholischer Resorzinlösung überschichtet: blaue Zone. Éventuell noch Reaktion mit $K_4Fe(CN)_6$.

IV. Gruppe. Das Filtrat der III. Gruppe wird mit HCl bis auf 5 bis 8 cm^3

eingedampft, vom ausgeschiedenen Schwefel filtriert, das Filtrat mit 15 bis 20 Tropfen einer Oxalsäurelösung versetzt, auf einem Barthel-Brenner bis zur Trockene abgedampft und geglüht, wobei $BaCO_3$, $SrCO_3$, $CaCO_3$, MgO, Na_2CO_3 und K_2CO_3 entstehen. Zur Überführung von CaO und MgO in Karbonate wird der Rückstand mit Ammonkarbonatlösung erhitzt, bis keine Ammoniakdämpfe mehr auftreten. Dann wird mit 1 bis 2 cm^3 Wasser behandelt und filtriert: die Alkalien gehen in Lösung. Der Filterrückstand wird mit HCl gelöst, mit $NH_4OH + (NH_4)_2CO_3$ gefällt.

Mg. Filtrat auf $MgNH_4PO_4$ geprüft.

Ba. Der Karbonatrückstand wird in Essigsäure gelöst und mit Bichromatlösung geprüft.

Ca. Prüfung mit $NH_4OH + K_4Fe(CN)_6$.

Sr. Prüfung mit Gipswasser und auf Flammenfärbung.

V. Gruppe. Das Filtrat von der Karbonatfällung wird mit Essigsäure neutralisiert.

K. Prüfung mit Natriumhydrotartratlösung oder Natriumkobaltinitritlösung.

Na. Prüfung mit Kaliumpyroantimoniat. REIF.

Die Analyse verdünnter Jodlösungen. Von H. A. LIEBHAFSKY. *Journ. Amer. Soc.*, **53**, *165 (1931).*

Nach Extraktion mit Tetrachlorkohlenstoff wird die jodhaltige Lösung zu einer 1%igen KJ-Lösung zugefügt, auf 0,001-n angesäuert und mit 0,004-n Thiosulfatlösung titriert. REIF.

Die Mikrojodbestimmung im Speisesalz. Von H. WERNER. *Ztschr. Unters. Lebensmittel*, **60**, *495 (1930).* (Ref. Chem. Zentralbl., I., 2089 [1931].)

Ausschütteln des Speisesalzes mit Alkohol zur Isolierung des Jodids ist ungeeignet. Das Verfahren von WINKLER gestattet noch die Bestimmung von 10 γ Jod in 100 g Speisesalz. REIF.

Schnelle kolorimetrische Bestimmung von Jod in Mineralwässern und Solen. Von L. C. CASE. *Chemist-Analyst*, **20**, *9 (1931).* (Ref. Chem. Zentralbl., I., 2089 [1931].)

Die Probe wird mit CS_2 und $CHCl_3$ ausgeschüttelt und nach Zusatz von HNO_2 mit einer Reihe von Standardlösungen, die bekannte Mengen Jod in KJ gelöst enthalten, kolorimetrisch verglichen. REIF.

Quantitative Untersuchungen über die Borsäure - Alkohol - Flammenreaktion. Von W. STAHL. *Latvijas Univ. Raksti, Chem. Ser.*, **1**, *369 (1930). Riga.* (Ref. Chem. Zentralbl., I., 1951 [1931].)

Am besten ist die Reaktion mit 5 Volumen CH_3OH und 1 Volumen konz. H_2SO_4, sie gestattet bei 60° noch 0,005 mg $B(OH)_3$ zu erkennen. REIF.

Bestimmung geringer Eisenmengen durch photochemische und kolorimetrische Methoden. Von B. S. SHARMA. *Journ. Soc. chem. Ind.*, **48**, *336 (1929).* (Ref. Chem. Zentralbl., I., 1951 [1931].)

Die Rotfärbung von Eisensalzen mit NH_4CNS geht im Dunkeln zurück, die entsprechenden Zeiten sind proportional der Fe-Menge und ebenso ist die Intensität der Farbe im Licht der Fe-Menge proportional, so daß sich darauf quantitative Methoden gründen lassen. REIF.

Eine Elektroskop-Einrichtung zum Aufsuchen von verlorenem Radium. Von A. S. Eve und J. Katzman. *Journ. scient. Instruments*, 8, *20 (1931)*. (Ref. Chem. Zentralbl., I., 1952 [1931].)

In einem Goldblattelektroskop werden die Blättchen mittels eines um 45° geneigten Spiegels durch ein vertikales Mikroskop beobachtet. Reif.

Ein Apparat zur Bestimmung von Spuren von Fluoriden nach der Ätzmethode. Von R. E. Essery. *Analyst*, **56**, *28 (1931)*. (Ref. Chem. Zentralbl., I., 1793 [1931].)

Das Proberohr aus Blei wird mit einem paraffinierten Glasplättchen verschlossen und längere Zeit stehengelassen. 2 mg in 100 g Substanz waren an der Ätzung noch nachzuweisen. Reif.

Bestimmung des Chroms im Rubin. Von W. O Leary und J. Pabish. *Amer. Mineralog.*, **16**, *34 (1931)*. (Ref. Chem. Zentralbl., I., 1793 [1931].)

Aufschluß der Substanz mit $KHSO_4$, Oxydation des Chromisalzes zu Chromat mit Natriumwismutat und Titration des Chromats mit 0,01-n $KMnO_4$ und $FeSO_4$. Verschiedene Rubine ergaben Werte von 0,1 bis 0,25% Cr_2O_3. Reif.

Eine neue Methode zur Bestimmung von Spuren von Chrom im Stahl. Von W. J. Agnew. *Analyst*, **56**, *24 (1931)*. (Ref. Chem. Zentralbl., I., 1794 [1931].)

Kolorimetrische Cr-Bestimmung im Stahl durch die Rotfärbung von Bichromat mit Diphenylcarbazid. Reif.

Spektrophotometrische Mikrobestimmung des Phosphors. Von T. Teorell. *Biochem. Ztschr.*, **230**, *1 (1931)*. (Ref. Chem. Zentralbl., I., 1646 [1931].)

Bei der kolorimetrischen P-Bestimmung unter Anwendung von 1-2-4-Aminonaphtholsulfosäure als Reduktionsmittel nach Fiske und Subbarow ist es möglich, durch Bestimmung der Farbe mittels Spektrophotometer ohne Verwendung einer Standardlösung 0,01 bis 0,05 mg P mit einer Genauigkeit von ± 2% zu bestimmen. Reif.

Gravimetrische, volumetrische und kolorimetrische Bestimmung von Magnesium mit 8-Oxychinolin. Von W. A. Hough und J. B. Ficklen. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, **52**, *4752 (1930)*.

Verfasser fällen das Mg ähnlich wie R. Strebinger und W. Reif mit 8-Oxychinolin in ammoniakalischer Lösung, glühen aber den filtrierten Niederschlag in einem Porzellantiegel zu MgO, welches gewogen wird. Die maßanalytische Bestimmung erfolgt durch Auflösen des Niederschlages in heißer n-H_2SO_4 und Titration mit $KMnO_4$ (4,17g/l) bis zur Rosafärbung. Fällt man mit einer gemessenen Menge der alkoholischen Reagenslösung unter Standardbedingungen, so kann das unverbrauchte Oxychinolin kolorimetrisch bestimmt und somit das vorhandene Mg berechnet werden. Reif.

Der Nachweis von Kobalt als Cäsiumkobaltinitrit. Von H. Yagoda und H. M. Patridge. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, **52**, *4857 (1930)*.

Zur essigsauren Probelösung fügt man 2 cm^3 6-mol. KNO_2- und 0,5 cm^3 0,5-mol. $CsNO_3$-Lösung zu: es fällt gelbes $Cs_2KCo(NO_2)_6$ aus. 0,01 mg Co in 1 cm^3 sind noch nachweisbar. Reif.

Bücherschau.

Das Betriebslaboratorium der Metallgießereien und verwandter Betriebe. Von Dr. W. CLAUS. Mit 154 Abbildungen. Verlag von Wilhelm Knapp in Halle a. d. Saale. Preis Mk. 5·50, geb. 6·90.

Die Entwicklung der Metallkunde brachte Hand in Hand eine Ausgestaltung der Prüfverfahren mit sich. Die systematische Durchforschung der metallischen Werkstoffe erforderte eine weitestgehende Ausgestaltung der prüftechnischen Einrichtungen, die im vorliegenden Buche in klarer, allerdings kurzer, aber übersichtlicher Form geschildert werden. Einleitend behandelt der Verfasser Gebiete der Metallkunde, wie Gasporosität, Seigerungserscheinungen, Schwindungserscheinungen und ungleichmäßigen Kristallaufbau, die in einem Buche über Betriebslaboratorien nicht erwartet werden. Der folgende Abschnitt beinhaltet die mechanisch-technologischen Prüfungsverfahren. Einer theoretischen Erklärung der einzelnen Methoden, wie statische, dynamische, Härte- und Sonderprüfverfahren, folgt ein Abschnitt über die hierzu erforderlichen Prüfmaschinen. Anschließend bespricht der Verfasser die Einrichtung einer Röntgenuntersuchungsanlage, das chemische Laboratorium, den physikalischen Meßraum, die metallographische und metallurgische Abteilung, um schließlich im letzten Abschnitt bei der Einrichtung der Bücherei die in Frage kommenden Bücher aufzuzählen. Diese Aufzählung erscheint ergänzungsbedürftig; man vermißt das Buch Bauer-Theiß, das für die chemische Analyse besondere Wichtigkeit hat, ferner die Zeitschrift für Mikrochemie, Stahl und Eisen sowie das Archiv für Eisenhüttenwesen; Zeitschriften, die in einem gut eingerichteten Betriebslaboratorium nicht fehlen sollen. Bei einer Neuauflage wäre eine eingehendere Beschreibung der mikrochemischen Arbeitsmethoden in Erwägung zu ziehen, da für den Spurennachweis von Elementen im Betriebslaboratorium nicht immer eine vollständige spektographische Einrichtung, die ausführlicher geschildert wird, vorhanden sein wird; während für mikrochemische Arbeitsverfahren einfache Hilfsmittel erforderlich sind.

Abgesehen von diesen Ergänzungsvorschlägen, stellt das Buch von CLAUS einen sehr brauchbaren Behelf bei der Einrichtung von Betriebslaboratorien dar und ist allen jenen, die sich mit dieser Frage zu befassen haben, bestens zu empfehlen. NIESSNER.

Grundzüge der anorganischen Chemie. Ein kurzgefaßtes Hilfsbuch und Repetitorium für Studierende der Naturwissenschaften, Medizin und Pharmazie. VIII + 230 Seiten. Von Dr. phil. Dr. Ing. LUDWIG WOLF. Zweite, verbesserte Auflage. 1931. Verlag F. Deuticke, Leipzig-Wien.

Das vorliegende Buch ist in der zweiten, verbesserten Auflage eine äußerst geschickt angelegte Einführung in die anorganische Chemie, sehr geeignet als Wiederholung des Vorlesungsstoffes und als Vorbereitung für die Prüfung für solche Studierende, welche die Chemie als Nebenfach betreiben. Die theoretischen Grundbegriffe der Chemie sind in der Einleitung klar hervorgehoben, ebenso finden sich, im ganzen Text verteilt, an den geeigneten Stellen die wichtigsten elementaren Tatsachen und Gesetze der physikalischen Chemie. Der Nichtchemiker kann sich aber auch über Atombau, Röntgenspektra und Kanalstrahlenanalyse, um nur einige moderne Probleme herauszugreifen, recht gut orientieren. Technisch-chemische Prozesse werden im Zusammenhang mit den Gewinnungsmethoden der einzelnen Stoffe erwähnt. Die Besprechung eines jeden Stoffes ist übersichtlich gegliedert nach Vorkommen, Darstellung, Eigenschaften, Verwendung und Nachweis. Nur einige kleine Bemerkungen möchte Referent der Besprechung noch beifügen. Für die nächste Auflage kämen einige textliche Verbesserungen in Frage. Bei Erwähnung der Eigenschaften des Wassers auf S. 28 leidet der sprachliche Ausdruck: Die Molekulargröße des Wassers ist unbekannt. Es besteht aus mehreren Molekülen, also $(H_2O)n$. Wäre es nicht möglich, hier den Begriff der Assoziation anzuwenden, der allerdings schon auf S. 24 in anderem Sinne eingeführt wurde? Auf S. 67 bei Besprechung der elektrischen Luftverbrennung muß es statt Funke wohl Flammenbogen heißen. Die physikalische Definition eines Glases auf S. 143 ist nicht streng; es handelt sich nicht um eine beim Schmelzpunkt erstarrte Flüssigkeit, sondern um eine unterkühlte Flüssigkeit mit hoher innerer Reibung. Die angeführten Verbesserungsvorschläge sollen aber keineswegs als Mängel gedeutet werden, die zweite Auflage beweist ja die gute Verwendbarkeit des Buches zum Studium. Erwähnt soll auch der niedere Preis (geh. Mk. 6·—, geb Mk. 8·—) werden, der dem wirtschaftlich schwächeren Studenten die Anschaffung eines Hilfsbuches der anorganischen Chemie erleichtert. Alles in allem, Verfasser und Verlag verdienen für ihr Werk Anerkennung. REIF.

Handbook of Chemical Microscopy. Von E. M. CHAMOT and C. W MASON. John Wiley & sons, New York, Chapman & Hall, Limited, London, 1930. Volume I.

Seit längerer Zeit ist man in richtiger Erkenntnis der Wichtigkeit des Unterrichtes aus analytischer Chemie in Deutschland, England und insbesondere in Amerika immer mehr bestrebt, diesen für jedes chemische Studium grundlegenden Unterricht zu erweitern und auszubauen, so daß manche große Hochschule zwei Lehrkanzeln für analytische Chemie besitzt, um eine größtmögliche Vertiefung in diesem Wissenszweig zu erzielen. Naturgemäß fällt dabei der systematischen Behandlung der modernen Mikromethodik eine Hauptaufgabe zu. Eines der schönsten und besteingerichtetsten Institute dieser Art hat die Cornell University Ithaca N. Y., U. S. A., deren „Laboratories of Chemical Microscopy" vorbildlich genannt werden müssen. Die Mikrochemie (II., 99) konnte über deren Einrichtung

in einem ausführlichen Artikel mit zahlreichen Abbildungen, den in dankenswerter Weise der Vorstand des Instituts Prof. E. M. CHAMOT zur Verfügung gestellt hat, berichten. Dieser bekannte Gelehrte hat nun, gestützt auf seine reichen, langjährigen Erfahrungen, das vorliegende Buch, das den Bedürfnissen bei der praktischen Betätigung auf diesem Wissensgebiete entsprungen ist, im Vereine mit seinem Mitarbeiter C. W. MASON verfaßt. Das Werk bringt uns in ausführlicher Beschreibung in verschiedenen Kapiteln Grundlagen der Optik des Mikroskops, Mikroskope zum speziellen Gebrauch in chemischen Laboratorien, Lichtquellen und Beleuchtung durchsichtiger und undurchsichtiger Objekte, Laboratoriumseinrichtung und Methoden der Materialvorbereitung zum Zwecke dessen mikroskopischer Untersuchung, Spezialmethoden zur Beobachtung von physikalischen Konstanten, wie Schmelzpunkt usw., Beschreibung und Anwendung von Ultramikroskopen, Mikrophotographie und Mikroprojektion, Polarisationsmikroskope, Chemische Kristallographie, Brechungsindex, Verschiedenes Messen unter dem Mikroskop, Quantitative Analyse mit Hilfe des Mikroskops. Zahlreiche Abbildungen und Anleitungen zur Durchführung von Übungsbeispielen ergänzen in glücklicher Weise den ausgezeichnet verfaßten textlichen Teil, man findet in jedem Kapitel die starke Persönlichkeit der hervorragenden Fachgelehrten.

Der in Vorbereitung befindliche zweite Band soll chemische Methoden und qualitative anorganische Analyse bringen.

R. STREBINGER.

Varia.

Dr. med. et ing. B. Flaschenträger, a. o. Professor für Physiologie an der Universität Leipzig, erhielt einen Ruf in das neugegründete Extraordinariat für physiologische Chemie an der Universität Zürich. Er ist dem Rufe gefolgt und hat seine Lehrtätigkeit in Zürich am 1. Mai aufgenommen.

H. A. L. Degener, Berlin, wurde in Anerkennung seiner besonderen Verdienste um die chemische Fachliteratur und gelegentlich des zehnjährigen Bestehens des von ihm geleiteten Verlages „Chemie" von der Technischen Hochschule Karlsruhe die Würde eines Ehrensenators und von der Deutschen Chemischen Gesellschaft die A.-W.-HOFMANN-Plakette verliehen.

Chemische Forschung in Deutschland. Amerikanische Zeitungen berichten, daß die Zahl der Forschungslaboratorien auf industriellem Gebiete, nicht eingerechnet die staatlichen und wirtschaftlichen Forschungsstätten, seit 1927 um 60% in den Vereinigten Staaten zugenommen hat. Die deutsche chemische Industrie ist dank der Weitsicht ihrer führenden Männer schon seit Jahren in gleicher Richtung tätig gewesen und es ist ihr dadurch gelungen, mit der internationalen Forschung Schritt zu halten, sie sogar in mancher Hinsicht weitgehend zu ergänzen. Neuerdings haben auch bei anderen Industrien, insbesondere der elektrischen und Maschinenindustrie, solche Bestrebungen eingesetzt. Das amerikanische Beispiel sollte zeigen, wie notwendig der Ruf „Forschung tut not!" auch für Deutschland ist.

Galliummetall. Gallium gehört zu den seltensten Elementen. Vergesellschaftet mit Germanium findet es sich im Germanit von Tsumub (Südwestafrika), in geringer Menge in Zinkblenden von Bensberg am Rhein, in pyrenäischen Blenden und in denen von Oklahoma in den Vereinigten Staaten. Sein Schmelzpunkt liegt bei etwa 30°; es ist also ein bei Sommertemperatur flüssiges Metall, das äußerlich dem Cadmium und Zink ähnelt. Anscheinend ist es jetzt leichter zugänglich geworden, denn die chilenische Salpeterindustrie trägt sich mit dem Gedanken, Galliummetall und Galliumsalze herzustellen. Ob das Gallium aus der Caliche (Rohsalpeter) gewonnen wird oder aus Abfallaugen, steht noch nicht mit Sicherheit fest.

Die Teilnahme an der 5. Hauptversammlung der Dechema, Deutsche Gesellschaft für chemisches Apparatewesen E. V., in Wien vom 28. bis 30. Mai 1931, zu der bekanntlich das wichtige Thema „Trennen fester und flüssiger Stoffe" zur

Behandlung kommt, steht den Mitgliedern der Dechema sowie den Teilnehmern an der Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker offen. Besondere Teilnehmerkarten gibt die Dechema nicht heraus. Anmeldungen zur Teilnahme an der 44. Hauptversammlung des Vereins deutscher Chemiker sind zu richten an: Österreichisches Verkehrsbüro, Wien, I., Friedrichstraße 7. Erster Anmeldeschluß: 2. Mai 1931.

Seltene Erden in der Glasfabrikation. Die seltenen Erden, die in der Beleuchtungstechnik beim Auer-Licht Verwendung gefunden haben, werden neuerdings auch zur Fabrikation farbiger Gläser verwandt. Je nach der Lichtquelle, der Glasstärke und dem Standpunkte des Beobachters ergeben sich wechselnde Farbeffekte. Bei Tageslicht erscheinen solche Gläser, die Neodym oder Praseodym enthalten, mattrosa, bei künstlicher Beleuchtung lachsrot, andere bei Tageslicht grünblau, bei künstlichem Licht tieflachsrot. Dem Kunstgewerbe wird mit diesen Gläsern ein vielfach verwendbarer Werkstoff gegeben. Es soll auch gelingen, dem Farbenblinden durch diese Gläser ein verstärktes Farbenunterscheidungsvermögen zu verleihen. Landschaften erscheinen durch ein Neodymglas bedeutend farbensatter, ein Umstand, der für die Vermessungstechnik von praktischer Bedeutung ist. Mit Hilfe der Gläser kann auch ein streng monochromatisches Licht erzeugt werden, z. B. die für optische Messungen in der Chemie und Physik wichtige grüne Spektrallinie des Quecksilbers.

Mikrochemie-Ausstellung. Einer Einladung der Ausstellungsleitung nachkommend, fanden sich Freitag, den 22. Mai d. J., vom Vorstande des Vereines Deutscher Chemiker die Herren Professoren Klages und Müller sowie zahlreiche Vertreter der Fach- und Tagespresse im Ausstellungsraum ein, den Prof. J. Tandler, Vorstand des I. Anatomischen Instituts, in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt hat.

Die Ausstellung bietet eine ausgezeichnete Gelegenheit, sämtliche Lehrbehelfe für mikrochemische Arbeiten in eingehender Weise zu besichtigen und zeigt dadurch in eindrucksvollster Weise die gewaltigen Fortschritte auf diesem Wissensgebiete, das in Österreich stets eine besondere Pflege gefunden hat. An der Ausstellung beteiligen sich mit wertvollen Geräten und Apparaturen zahlreiche Firmen des In- und Auslandes.

Nach einer Begrüßung durch Herrn Dozenten Dr. Strebinger, in der auf Entwicklung, Stand und Wege mikrochemischer Forschung hingewiesen wurde, erfolgte eine Führung durch die Ausstellung, welche regstes Interesse fand. Herr Dozent Dr. Feigl richtete noch einige zusammenfassende Schlußworte an die Erschienenen und sprach den Dank der Ausstellungsleitung für den zahlreichen Besuch aus.

Ein ausführlicher Bericht über die Ausstellung selbst und über den Verlauf derselben wird in der nächsten Nummer der Mikrochemie erscheinen.